

MEMORIE DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

CLASSE DI SCIENZE FISICHE, MATEMATICHE E NATURALI

ANNO CCCIII

SERIE QUINTA — VOLUME VI — FASCICOLO VII.

GUIDO TIZZONI E GAETANO FASOLI

B 9 22

SAGGIO DI RICERCHE BATTERIOLOGICHE

SULLA PELLAGRA



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. VINCENZO SALVIUCCI

1906

Saggio di ricerche batteriologiche sulla pellagra.
Memoria del Socio GUIDO TIZZONI e del dott. GAETANO FASOLI
presentata nella seduta del 1° aprile 1906.

(Con quattro tavole)

Cenni bibliografici.

Le attuali conoscenze sulla causa e natura della pellagra, si può dire, rimangono ancora nel dominio dell'ipotesi, benchè una straordinaria attività scientifica per parte degli studiosi, specialmente italiani, abbia portato luce sopra molte questioni importanti.

E ben a ragione lo Sturli ⁽¹⁾ affermava all'ultimo congresso pellagrologico di Merano, dopo aver constatato quanto è stato fatto su questa malattia principalmente per opera degli italiani, « che la vera etiologia della pellagra è tuttora ignota, e che in proposito si attendono ancora studi concreti ».

Cadute le vecchie credenze che attribuivano la pellagra alla insufficiente alimentazione (Liebig), ed infirmata quella degli zeisti (Lussana, Roussel, Strambio ecc. ecc.) che volevano essere l'alimentazione maidica per sè stessa la causa del morbo (*), sorse la scuola del Lombroso, il quale nelle note sue opere ⁽²⁾ compiute in quest'ultimo trentennio, stabilì un concetto più chiaro e più attendibile della malattia, per quanto non ancora dimostrato in modo assoluto.

Il Lombroso ammette che il veleno del mais guasto (pellagrozeina) sia la causa vera ed unica del morbo; la sostanza tossico-chimica, poi, verrebbe elaborata a spese del grano stesso per opera della svariata flora di microrganismi che vi germogliano; peraltro senza che alcuno di essi possa dirsi il principale ed esclusivo fattore della produzione di tale veleno.

Con ciò il Lombroso veniva a negare ai microrganismi del mais avariato qualsiasi azione specifica nell'organismo umano, e ad attribuire al granturco, come ter-

(1) Sturli, Rivista pellagrologica italiana, anno V, n. 6, 1905.

(*) Per le notizie bibliografiche antecedenti al 1892 vedi la sotto citata opera del Lombroso.

(2) Lombroso, Studi clinici e sperimentali sulla natura, cause e terapia della pellagra, Bologna 1871; Id., Trattato profilattico e clinico della pellagra, Torino F.^{lli} Bocca, 1892.

reno di coltura assolutamente indispensabile, la maggiore importanza nella produzione del veleno in parola.

Finalmente, lo stesso autore spiega i fenomeni che accompagnano il tifo pellagroso, con le alterazioni che il tossico sopra ricordato apporterebbe ai reni; e ciò in perfetta armonia con quanto più tardi fu dimostrato avvenire nella produzione del colera-tifoide.

Questo concetto lombrosiano trovò una più larga e più particolareggiata esplicazione nelle ricerche successive, per quanto a tale proposito non tutti gli autori concordino perfettamente sulle varie questioni.

Così Gosio e Ferrati ⁽¹⁾ determinarono meglio la natura chimica del veleno che si forma dal mais guasto, che classificarono nella serie aromatica; il Ferrati ⁽²⁾ stabilì che i soli ifomiceti (*penicillum*) hanno importanza nella produzione di questo veleno; il Mariani ⁽³⁾ provò che tale veleno risiede di preferenza nell'embrione del grano; finalmente il Neusser ⁽⁴⁾ ammise che il veleno in questione non sia preformato nel mais avariato, ma che in questo si trovino solamente le sostanze madri che, una volta ingerite, si trasformerebbero nell'intestino nelle rispettive tossine. Invece Belmondo ⁽⁵⁾, Pellizzi ⁽⁶⁾, Tirelli ⁽⁷⁾ ed altri riconobbero pure nei germi del mais guasto la causa prima della pellagra, ma ritengono che tali germi possano produrre anche su altri terreni di nutrizione i veleni che il Lombroso ammette originarsi esclusivamente dal mais avariato; perciò, al concetto della semplice intossicazione per veleni formati fuori del corpo, sostituiscono quello *tossico-infettivo*, secondo il quale la malattia sarebbe determinata « da inquinamento dell'organismo per veleni batterici » (vedi Tirelli, loc. cit., pag. 38).

Così il Tirelli, col filtrato di colture fatte coi germi del mais guasto sopra gli ordinari substrati di nutrizione e previamente bollite o sterilizzate in modo discontinuo, sarebbe riuscito ad ottenere negli animali « tutti i fenomeni comuni alla pellagra, non escluso il quadro del tifo pellagroso ».

Di fronte a questi concetti, i quali, in fondo, fanno tutti risalire ai germi comuni del mais avariato la produzione del veleno pellagrogeno, differenziandosi solo in questo, che per taluno tale veleno si formerebbe sempre fuori del corpo, ed esclusivamente nel granturco avariato, mentre per altri potrebbe formarsi anche dentro l'organismo, abbiamo un'altra serie di ricerche in cui si tentò di provare la specificità di alcuni microrganismi del mais.

Con questo intendimento il Maiocchi ⁽⁸⁾ fino dal 1881 riescì, infatti, ad isolare dal sangue di ammalati di pellagra uno schizomicete che denominò *bacterium maydis*; schizomicete che aveva il suo riscontro in forme analoghe osservate fra i

(1) Gosio e Ferrati, Rivista di Igiene e Sanità pubblica, 1892

(2) Ferrati, Il Policlinico, 1900, n. 17.

(3) Mariani, Rivista pellagologica italiana, anno 1901, n. 2.

(4) Neusser, Die Pellagra in Österreich und Rumänien, Wien 1887.

(5) Belmondo, Rivista sperimentale di Freniatria, vol. XV e XVI.

(6) Pelizzi e Tirelli, Annali di Freniatria e scienze affini del R. Manicomio di Torino, 1894.

(7) Tirelli, Annali di Freniatria ecc., 1895.

(8) Maiocchi, Bollettino della R. Accademia medica di Roma, 1881.

microrganismi del mais guasto e che il Cuboni ⁽¹⁾ ritrovò più tardi anche nelle feci dei pellagrosi.

Peraltro, tali risultati furono contraddetti in seguito da Paltauf e Heider ⁽²⁾, i quali isolarono dal mais avariato innumerevoli varietà di germi (sporisorium, mucor racemosus, saccaromiceti, micrococchi, molte varietà di bacilli, ecc.) senza aver potuto dimostrare nessuna proprietà specifica dei germi isolati. Invece, per quanto riguarda la velenosità di questi germi, Bordoni-Uffreduzzi e Ottolenghi ⁽³⁾ trovarono che la polenta alterata col mezzo dello stesso *bacterium maydis* dispiega una manifesta azione tossica negli animali, e lo stesso ebbero, per quanto in grado minore, Pellizzi e Tirelli (loc. cit.), i quali videro, inoltre, che il maggior potere tossico delle colture fatte con le diverse farine di mais guasto, si ottiene quando si sviluppano in prevalenza i bacilli fluorescenti ed i bacilli segnati coi numeri 1 e 2, ossia bacilli piccolissimi, appuntati alle estremità, e che danno rispettivamente colonie bianco-lucenti, fondenti la gelatina e colonie di color giallo.

Finalmente è da ricordare allo stesso proposito, che il Carraroli ⁽⁴⁾ isolò dalle farine avariate un bacillo che per i suoi effetti sperimentali e per le ricerche chimico-batteriologiche considerò come l'agente specifico della malattia e che indicò col nome di bacillo della pellagra; che il Fossati ⁽⁵⁾ coltivò dal pane di granturco, anche dopo la sua cottura, uno streptococco ed un bacillo simile al coli; il primo capace di determinare negli animali forme di enteriti gravi, il secondo suscettibile di aumentare le proprietà patogene dello *aspergillus fumigatus*.

Dopo i batteri del mais avariato furono le muffe quelle incolpate maggiormente di determinare la pellagra, e quasi tutte le ricerche compiute negli ultimi anni ebbero appunto questo risultato.

È merito del Gosio ⁽⁶⁾ di aver prestato per primo l'attenzione alle muffe, e di aver dimostrato che le avarie del mais provengono in massima parte dal *penicillum glaucum*; ed ai lavori del Gosio fatti insieme al Ferrati (loc. cit.) e da questi continuati da solo (loc. cit.), spetta ancora il merito di aver riconosciuto che per opera dello stesso penicillo si originano prodotti fenolici che inquinano l'organismo e sono la causa principale della intossicazione pellagrogena.

Più tardi il Di Pietro ⁽⁷⁾ confermò l'importanza del *penicillum glaucum* nella produzione della malattia, limitando peraltro l'azione patogena dei penicilli ad una o ad alcune loro speciali varietà; inoltre provò che il tossico è contenuto nelle spore, dalle quali si può anche estrarre, e cogli estratti riprodurre negli animali il quadro classico della pellagra.

(1) Cuboni, Archivio di Psichiatria vol. III^o; Atti dell'Accademia dei Lincei, 1885-1886.

(2) Paltauf e Heider, Medizinisches Jahrbuch., 1868.

(3) Bordoni-Uffreduzzi e Ottolenghi, Archivio di Psichiatria, 1890; Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino, n. 9-10, 1890.

(4) Carraroli, Giornali della R. Società d'Igiene, n. 7/9; Jahresber. di Baumgarten, 1893.

(5) Fossati, Rivista pellagologica italiana, anno IV^o, n. 4, 1904.

(6) Gosio, Riv. di Igiene e Sanità pubblica, 1896; Riv. pellagologica italiana, anno III^o, n. 3, 1903.

(7) Di Pietro, Annali di Igiene speriment., fasc. 1^o, anno 1902; Riv. pellagologica ital., n. 6, 1903.

Finalmente il Ceni ⁽¹⁾ in una lunga serie di ricerche, in alcune delle quali ebbe a collaboratore il Besta ⁽²⁾, attribuì agli aspergilli un valore specifico nella produzione della pellagra, e specialmente alle due varietà *fluorescens* e *fumigatus*, con assoluta predominanza della seconda, ponendo in modo più chiaro il concetto che tale malattia sia effettivamente un'ifomicosi. Infatti questo autore avrebbe dimostrata una vera infezione aspergillare, sia nelle forme acute di malattia, sia in quelle subacute, con localizzazioni elettive al polmone, alla pleura, al pericardio ed alla pia-madre; di più sarebbe riuscito a riprodurre nel pollo il quadro classico della pellagra (acuta, subacuta e lenta), tanto col mais guasto introdotto per la via gastrica, quanto con l'iniezione nel pericardio delle spore di *aspergillus fumigatus*, e a dimostrare in questo animale la presenza di lesioni interne di natura aspergillare, specialmente al polmone ed al pericardio, del tutto simili a quelle riscontrate nell'uomo.

Riguardo poi al meccanismo col quale l'ifomicosi in parola si determinerebbe, il Ceni ammette che i rispettivi germi provengano dall'intestino allo stato di spora, localizzandosi sotto questa forma nei varî organi e tessuti di loro elezione; e che da tali spore si elabori e si sprigioni il veleno potentissimo che determina la intossicazione generale e che è causa, a sua volta, dei processi flogistici locali, a carattere diffuso. Peraltro tutte le conclusioni riportate in questo ordine di ricerche furono contraddette poco dopo, e più o meno efficacemente combattute dagli studi successivi.

Così Antonini e Ferrati ⁽³⁾ non poterono mai isolare dal mais guasto preso da località invase dalla pellagra, penicilli con spore velenose, come vorrebbe il Di Pietro; ma ebbero invece sostanze tossiche con la reazione chiara dei fenoli dai relativi terreni di nutrizione sui quali gli stessi penicilli si erano fatti sviluppare.

Eguale il Camia ⁽⁴⁾ non riscontrò la presenza di spore nei tessuti e negli organi dei pellagrosi, come avrebbe rinvenuto il Ceni; il Gavina ⁽⁵⁾ trovò che nella produzione dei tossici pellagrogeni dagli ifomiceti, la tossicità del substrato si afferma indipendentemente dalla presenza di spore o di miceli nel liquido colturale usato per gli esperimenti; finalmente Antonini e Ferrati (loc. cit.) non poterono isolare alcuna specie di aspergilli dai cadaveri dei pellagrosi, e trovarono inoltre che gli aspergilli stessi sono pochissimo patogeni per gli animali, per cui, anche iniettati in grande quantità, o non determinano nessun effetto, o danno luogo a semplici peritoniti.

Per ultimo il De Giaxa ⁽⁶⁾ pensa, differentemente da tutti gli autori precedenti, che la prevalenza della alimentazione maidica abbia una influenza indiretta nella produzione della pellagra, in quanto favorirebbe la esaltazione della virulenza degli ordinarî germi dell'intestino, specie del *b. coli*, e così determinerebbe una autointossicazione da cui dipenderebbe esclusivamente il quadro della malattia.

⁽¹⁾ Ceni, Rivista sperimentale di Freniatria, vol. XXVIII, XXIX, XXX, XXXI. 1902-1905; Giornale della R. Società di Igiene, 1905.

⁽²⁾ Ceni e Besta, Riv. sperim. di Freniatria, vol. XXVIII, XXIX, XXXI.

⁽³⁾ Antonini e Ferrati, Archivio di Psichiatria ecc., vol. XXIV, f. V-VI.

⁽⁴⁾ Camia, Riv. di patologia nervosa e mentale, n. 12, 1904.

⁽⁵⁾ Gavina, Rivista pellagologica italiana, anno V, n. 5, 1905.

⁽⁶⁾ De Giaxa, Arch. di Psichiatria e scienze affini vol. XXX, fasc. I-II; Jahresber. di Baumgarten, 1893; Annali di Igiene sperimentale, vol. XIII, 1903.

Questi i risultati ottenuti finora sulla etiologia e patogenesi della pellagra; risultati che hanno condotto ad alcune teorie che qui riportiamo, perchè meglio di qualsiasi particolareggiata descrizione compendiano e fanno intendere quale è lo stato attuale della questione su questa malattia.

1°. *Teoria tossico-chimica*, che ammette nella pellagra un avvelenamento cronico determinato da un tossico esogeno formatosi esclusivamente nel granturco avariato per opera di germi comuni.

2°. *Teoria tossico-infettiva*, per la quale gli stessi germi del mais, soprattutto le varie specie batteriche, darebbero luogo alla produzione di veleno anche nell'interno del corpo.

3°. *Teoria infettiva specifica*, che riporta la pellagra ad una particolare forma batterica.

4°. *Teoria dell'ifomicosi*, in cui l'infezione sarebbe data esclusivamente da muffe (aspergilli).

5°. *Teoria dell'autointossicazione*, determinata questa dalla esaltazione dei germi normali dell'intestino in seguito alla prevalenza dell'alimentazione maidica.

Di tutte queste teoriche, quella che ha maggiori prove in appoggio e che ha maggiormente resistito alla critica, è indubbiamente la prima, dovuta alle ricerche del Lombroso e della sua Scuola; quelle più deficienti di fatti e che attendono ancora una più larga conferma, sono la 3ª e la 5ª, ossia la teoria infettiva specifica e quella dell'autointossicazione; finalmente le più difettose sono la 2ª e la 4ª, in quanto manca in esse la dimostrazione che i germi del mais (batteri, muffe) hanno effettivamente attecchito nell'organismo; condizione questa che è assolutamente indispensabile a conoscersi per distinguere se trattasi veramente d'infezione o di semplice intossicazione.

Le prove addotte al riguardo non chiariscono in modo rigoroso tale questione; nemmeno è sufficiente la dimostrazione della presenza di spore in seno ai tessuti ed agli organi, nei quali potrebbero esser solo passivamente trasportate; per cui tutti i fatti a questo proposito rilevati non valgono, in conclusione, che ad appoggiare la teoria del Lombroso, in quanto in ultimo dimostrano la possibilità della produzione di veleni pellagrogeni da taluni germi del mais guasto, ma con questa restrizione, che mentre per il Lombroso tali veleni si formerebbero esclusivamente dal mais, invece per i sostenitori delle citate teoriche potrebbero originarsi anche da altri substrati nutritivi ed essere prodotti, anzi che dal complesso dei germi del granturco avariato, solo da alcune specie (batteri, muffe).

Concetto delle nostre ricerche.

In primo luogo deve qui, con grande meraviglia, esser rilevato il fatto che in una malattia come la pellagra, la quale colpisce l'uomo in un modo così grave e diffuso, l'agente causale sia stato ricercato dapprima, e quasi esclusivamente, fuori del corpo.

Non sono mancati, è vero, studi fatti anche sull'uomo; ma questi, se hanno rilevato facilmente importanti alterazioni anatomiche, specie nel sistema nervoso, (Bel-

mondo ⁽¹⁾, Vassale ⁽²⁾, Brugia ⁽³⁾), invece dal lato batteriologico non hanno mai condotto a risultati attendibili.

Ciò deve, a nostro giudizio, riconoscere la sua ragione principale nella scelta dei soggetti da studio, perchè le forme croniche di pellagra, che servirono nel maggior numero delle osservazioni fatte finora, sono indubbiamente le meno adatte per rilevare l'elemento causale della malattia. Infatti, nelle forme anzidette, il processo infettivo spesso è del tutto spento, e permangono nell'organismo solo le conseguenze di una pregressa intossicazione, oppure tale processo è ancora in atto, ma circoscritto esclusivamente all'intestino; quindi, in simili condizioni, l'esame del sangue e degli organi difficilmente può farci risalire alla conoscenza della causa prima del male, e quello dell'intestino e del suo contenuto può egualmente fallire allo scopo per le ragioni seguenti:

1°, per la piccolezza e la lentezza di sviluppo delle colonie specifiche, che così possono essere facilmente sopraffatte da quelle degli ordinari germi intestinali;

2°, per la impossibilità di sviluppo dei germi specifici sugli ordinari substrati di nutrizione e per la necessità di usare in questo caso speciali terreni di coltura, sui quali non è dato pronunciarsi *a priori*, senza aver conoscenza dapprima delle proprietà biologiche e batteriologiche del germe cui devono servire.

Dietro questo concetto noi ritenemmo che l'attenzione nostra dovesse essere in primo luogo rivolta ai casi acutissimi di pellagra e rapidamente mortali, come quelli che ci sembrarono più favorevoli per rilevare una diffusione del germe nell'organismo. Che se ciò si fosse verificato, e noi con questi studi, che chiameremo di semplice esplorazione, fossimo riusciti ad ottenere risultati batteriologici positivi dal sangue e dagli organi, più facile, una volta conosciute le proprietà biologiche e colturali del germe, sarebbe riescito il compito di ricercarne la presenza nell'intestino e fuori del corpo.

E poichè in tali forme acutissime di malattia tutto parla in favore di una intossicazione diretta del sistema nervoso, in seguito alla diffusione dei germi nell'organismo dal loro focolaio primitivo ed alla loro localizzazione elettiva specialmente nei centri cerebro-spinali, così a questi ed al sangue doveva in particolar modo esser rivolta la nostra attenzione.

Volendo poi allontanare l'obbiezione che i casi positivi fossero esclusivamente dovuti ad una diffusione post-mortale di germi banali, abbiamo non solamente cercato di praticare l'autopsia in epoca non troppo lontana dalla morte, ma, quando ci fu possibile, non abbiamo trascurato di prendere ancora materiale dal vivo (sangue).

Noi dobbiamo riconoscere, con dispiacere, che assai limitato è il numero delle osservazioni che con questo indirizzo ci fu consentito di fare; e volentieri avremmo atteso a rendere le nostre ricerche di pubblica ragione, se non avessimo urtato contro enormi difficoltà per vederle aumentate; difficoltà derivanti, non solo dalla lontananza dai maggiori centri della pellagra, ma ancora dalla relativa scarsezza dei soggetti che meglio si prestano per questi studi.

(1) Belmondo, Le alterazioni anatomiche del midollo spinale nella pellagra, e loro rapporti coi fatti clinici. Rivista sperimentale di Freniatria et., Vol. XV e XVI, 1889-1890.

(2) Vassale, Sulla enterite pellagrosa in rapporto colla etiologia della pellagra. Rivista sperimentale di Freniatria et., 1891.

(3) Brugia, Le osservazioni del sistema gangliare simpatico nella pazzia pellagrosa. Imola, 1901.

Questi, perciò, varranno più che altro ad indicare la via per la quale si possono nella pellagra conseguire risultati definitivi, ed a stimolare quei colleghi che si trovano in condizioni di studio più favorevoli delle nostre a continuare nella ricerca.

Risultati conseguiti.

Le nostre indagini furono rivolte a tre forme diverse di malattia:

- 1° forme acutissime e rapidamente mortali (tifo pellagroso, frenosi pellagrosa);
- 2° forme subacute terminate egualmente colla morte (frenosi pellagrosa);
- 3° forme croniche.

1ª Serie. Forme acutissime e rapidamente mortali (tifo pellagroso, frenosi pellagrosa). — Tre sono i casi di questa categoria da noi esaminati, di cui i due primi studiati solamente da uno di noi (Tizzoni).

OSSERVAZIONE 1ª. *Tifo pellagroso*. — Riguarda certa Bellotti che negli anni precedenti aveva più volte presentato sintomi di pellagra, e che il 29, V, 98, venne a morte nel Manicomio di Reggio col quadro classico del così detto tifo pellagroso.

Non essendoci concesso di praticare l'intera sezione, potemmo ottenere dalla squisita gentilezza del direttore del Manicomio prof. Tamburini e del prof. Vassale di raccogliere dal cadavere un poco di sangue (4-5 cc.) da una grossa vena del collo, e di aspirare altrettanto liquido cefalo-rachidiano dallo spazio sottoaracnoidale del cervello; tutto questo facemmo, naturalmente, con le maggiori precauzioni antisettiche.

Non è fuor di luogo notare ancora che in quell'epoca la stagione era eccezionalmente rigida in seguito ad una forte nevicata, e che la raccolta del materiale ricordato fu fatta poche ore dopo la morte.

Messi nel termostato il sangue ed il liquido cefalo-rachidiano senza aggiunta di altro liquido nutritivo, dopo 5-6 giorni si notò nell'uno e nell'altro la presenza dello stesso germe in coltura pura, un poco più tardi nel sangue, che aveva assunto contemporaneamente una tinta molto scura.

Caratteri microscopici. — Catene di varia lunghezza, circonvolute, ramosse, isolate o riunite in grossi accumuli; gli elementi di queste, che sono piccolissimi, circa $\frac{1}{3}$ più piccoli degli pneumococchi del Fränkel, a prima vista hanno tutto l'aspetto e la disposizione degli pneumococchi, ma effettivamente sono costituiti da sottili e corti bacilli con la sostanza colorante portata ai poli. Negli elementi molto giovani, poi, si vede bene la forma bacillare per il manifesto predominio di uno dei diametri e per una colorazione più uniforme. Si osserva, inoltre, che nelle colture in mezzi liquidi (brodo-sangue) predomina la forma a catena, con elementi dell'aspetto dei diplococchi, mentre nei mezzi soliti di nutrizione (agar-sangue) la forma bacillare è più evidente, tanto negli individui isolati, quanto in quelli riuniti in grossi ammassi.

Questi germi si colorano bene con tutti i colori di anilina: resistono alla decolorazione col metodo Weigert, non a quella col metodo Gram.

Caratteri colturali. — La caratteristica principale di questo bacillo è che esso vegeta e si mantiene vivo solamente nei substrati nutritivi che contengono albumine non coagulate.

Quindi il substrato migliore di nutrizione è il sangue, tanto di uomo, quanto di coniglio, defibrinato o no.

Nei substrati artificiali di nutrizione, la coltura del germe in parola si sviluppa abbastanza rigogliosamente e si mantiene nei trapianti successivi, solo quando si faccia in questi substrati un innesto molto abbondante da coltura in sangue, o quando si aggiunga ad essi una piccola quantità di sangue sterile.

a) Sangue. — Le colture in sangue sono sempre molto ricche; sono costituite da elementi separati in forma di diplococchi, simili ai diplococchi del Fränkel, e da catene formate dagli stessi elementi, e tanto isolate quanto riunite in ammassi; tali colture raggiungono il massimo del loro sviluppo in 24-48^h.

Il sangue perde presto il colore rosso-rutilante ed acquista un colore più scuro, rosso-bruno, assumendo in ultimo tutto l'aspetto del siroppo di more. Il sangue non defibrinato, poi, sembra essere un substrato nutritivo migliore di quello defibrinato e la coltura vi si conserva più a lungo.

b) Brodo. — Nel brodo con aggiunta di sangue o con innesti fatti direttamente dal sangue, la coltura si sviluppa assai presto ed è abbastanza ricca; dopo 24^h si avverte nel brodo un intorbidamento uniforme con qualche fiocchetto sospeso; dopo 36-48^h la coltura è interamente rischiarata ed al fondo si è depositato un ricco sedimento fatto da grossi fiocchi che, agitando il tubo, si sollevano facilmente mescolandosi di nuovo al liquido sovrastante. Il brodo per lo sviluppo della coltura diviene prontamente e manifestamente acido. Nei trapianti successivi, senza aggiunta di sangue, la coltura si fa sempre più scarsa, fino che al 2°-3° passaggio rimane completamente sterile.

c) Agar. — La coltura nasce solo quando all'agar si aggiunge del sangue d'uomo o di coniglio (blut-agar), o quando l'innesto è fatto direttamente da coltura in sangue, ed in 24^h raggiunge il massimo del suo sviluppo. L'aspetto della coltura è molto delicato; essa è costituita da colonie staccate piccolissime, di colore bianco-grigiastro, talora così vicine fra loro da formare come un sottilissimo velamento finamente punteggiato, quasi pulverulento, non sempre rilevabile facilmente ad occhio nudo a causa della sua sottigliezza e trasparenza.

A luce incidente si vede che le colone appaiono rilevate, trasparenti, come piccole gocciollette, a superficie lucida, secca. Nell'agar glicerinato la coltura è più ricca, le colonie più confluenti, ed il loro aspetto è più umido, meno secco di quello delle colonie sviluppate sull'agar senza glicerina.

I trapianti da blut-agar in agar senza aggiunta di sangue, dapprima nascono molto scarsamente, dando luogo allo sviluppo di 3-4 colonie appena, poi nei successivi trapianti non nascono più affatto. È sembrato osservare, peraltro, che la coltura del germe in questione, nasce tanto meglio sull'agar semplice senza aggiunta di sangue quanto più il germe stesso è attenuato, cioè quando non è più capace di uccidere il topolino ed il topo decumano; nel qual caso la forma microscopica ha perduto quasi intieramente il carattere di streptobacillo che aveva in origine, per assumere maggiormente l'aspetto di un ordinario streptococco.

d) Gelatina. — Anche in questo mezzo di nutrizione, con o senza aggiunta di zucchero, la coltura nasce presto e bene, e tanto a 37° quanto a 22° C., se alla gelatina si aggiunge un po' di sangue o se l'innesto viene fatto da coltura in sangue.

I trapianti successivi senza aggiunta di sangue rimangono completamente sterili.

L'aspetto della coltura in *gelatina mantenuta a 37° C.* è eguale a quello delle colture in brodo, solo che nella prima la coltura raggiunge il massimo di sviluppo in un tempo un poco maggiore, in 3-4 giorni. Anche nella gelatina, infatti, si forma dapprima un intorbidamento uniforme, poi si separano dei fiocchetti che sedimentano al fondo del tubo e si attaccano tenacemente alla sua parete, lasciando il liquido completamente limpido. L'aggiunta di sangue fresco rende la coltura più pronta e più ricca; la gelatina non fluidifica mai, anche dopo lunga permanenza della coltura alla stufa.

Anche in *gelatina tenuta alla temperatura di 22-25° C.*, gli innesti fatti da culture in sangue nascono abbastanza bene, ma solo lungo l'infissione fatta dall'ago; dove si forma un sottile nastrino biancastro, a contorno irregolare, onduloso, ed a bordi leggermente rilevati, costituito da tante piccole colonie sferiche, bianco-giallognole, le quali alla periferia della coltura raggiungono maggiori dimensioni che nelle parti centrali. Coll'invecchiamento la parte più profonda della coltura assume una leggiera tinta giallo-aranciata, ma la gelatina non si colora nè fluidifica mai.

Caratteri biologici. — Le colture sopra descritte (brodo, gelatina a 37° C.) nascono bene, tanto all'aria quanto al vuoto; il mancato sviluppo alla superficie della gelatina mantenuta alla temperatura ambiente, si deve, non alla presenza dell'aria, ma alla mancanza in questa parte del materiale indispensabile allo sviluppo della coltura stessa (sangue), che nell'innesto viene ad essere trasportato e depositato esclusivamente lungo l'infissione fatta dall'ago nella gelatina.

La vitalità di tali culture è molto limitata; nell'agar con sangue le colture muoiono se ogni 6-8 giorni non si provvede ad un nuovo passaggio. In questo modo siamo riusciti ad arrivare fino alla 39^a gen. in blut-agar, dopo la quale la coltura fu perduta per aver tardato 20 giorni a fare il successivo trapianto. Le colture in gelatina al vuoto sembrano avere una vitalità un poco più lunga; anche queste, peraltro, dopo 45 giorni non danno più passaggi positivi.

Non fu esaminato se il germe in parola è provvisto di mobilità ed a che grado.

Potere patogeno. — Le colture sopra descritte sono patogene per il topo, per il coniglio e per la cavia; nei primi due animali determinano un quadro acuto della malattia seguito rapidamente da morte; nell'ultimo un quadro morboso cronico che conduce molto tardivamente all'esito letale.

a) Topolino (*mus musculus albinus*). — La iniezione sottocutanea di $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{6}$ di coltura in blut-agar di 24-48^h ripresa con acqua salata, determina la morte dell'animale in due giorni senza fenomeni caratteristici. Localmente produce infiltrato gelatinoso o puriforme ricco di germi; nel sangue pure si osservano numerosi germi a forma di diplococchi; i visceri appaiono normali, salvo la milza che talora si presenta ingrossata.

Gli effetti della coltura, poi, sono un poco differenti, secondo che si usano generazioni avute direttamente dal materiale originale o molto prossime a questo, oppure delle generazioni più lontane.

Così la coltura in agar, derivata direttamente dal sangue dell'ammalato, come il 7° trapianto successivo in blut-agar, dettero lieve infiltrazione locale sieroso-gelatinosa e ricca setticemia, mentre la 24^a generazione, egualmente in blut-agar, determinò forte infiltrazione locale purissima e morte senza fatti setticoemici.

Quindi le colture più attive, come quelle che derivano direttamente dal materiale originale, o i primi trapianti in blut-agar, uccidono per setticemia acuta; quelle meno attive, invece, danno maggiori guasti locali ed uccidono per intossicazione.

Ciò sta a significare che allo stato di saprofita il germe in questione si attenua rapidamente, e che in questa attenuazione passa dalla forma settica alla forma tossica, per riescire in ultimo del tutto indifferente.

Quindi il topolino è un animale che si presta benissimo per giudicare se la coltura è attiva oppure no, ed a qual grado.

b) Topo (*mus decumanus albinus*). — Iniezione di $\frac{1}{4}$ di coltura in blut-agar da sangue originale ripresa con acqua salata, determina infiltrazione locale di essudato gelatinoso e morte in tre giorni. Nel sangue dell'animale non si vedono bacilli all'esame microscopico, ma la coltura riesce positiva; visceri apparentemente normali.

Nel topo la 7^a gen. in blut-agar riesce senza alcun effetto; perciò questo animale, in confronto al topolino, si mostra assai meno sensibile alla coltura, e muore di forma tossica, anziché di setticemia, anche per colture avute direttamente dal materiale originale.

c) Coniglio. — In questo animale l'azione patogena della coltura è stata provata introducendo il virus per diverse vie.

Sottocutanea. — La coltura iniettata sotto la pelle determina solo una infiltrazione locale molle che gradatamente si riassorbe, ed un leggero e transitorio aumento della temperatura; mai conduce alla morte dell'animale. Questo anche quando si usa una forte quantità di materiale ($\frac{2}{3}$ di coltura in blut-agar) e quando s'iniettano le prime generazioni (3^o passagg.) avute dal materiale originale (sangue).

Endovenosa. — Anche per questa via la coltura non conduce mai alla morte dell'animale, ma i fenomeni che determina sono assai più gravi di quelli notati per l'iniezione sottocutanea; e tanto più gravi quanto minore è il numero dei passaggi che la coltura avuta dall'uomo ha subito sui mezzi artificiali di nutrizione (1^a-6^a gen.).

Così, l'aumento della temperatura è più rapido, seguendo quasi immediatamente alla iniezione, e molto più duraturo; la febbre raggiunge un massimo assai più elevato (41°) e si accoppia ad una diminuzione del peso corporeo abbastanza rilevante.

Quando poi l'iniezione è fatta con coltura ottenuta direttamente dal materiale originale (sangue), allora ai fenomeni notati seguono disturbi assai rilevanti del sistema nervoso, specie forme di contratture spastiche e paresi del treno posteriore, per le quali l'animale cammina come quelli che si trovano nel primo periodo della rabbia paralitica; forme nervose che durano molto a lungo, determinando atrofie e caduta del pelo nella parte interessata, sulla quale l'animale stenta a reggersi.

In ultimo tutto ritorna allo stato normale, ma in un periodo molto lungo.

Questi fenomeni nervosi sono appena accennati, o mancano affatto, quando si usano per l'iniezione i successivi passaggi (6^a gen.) della stessa coltura.

Ciò sta a significare che gli effetti ottenuti nel coniglio sul sistema nervoso in seguito ad iniezioni endovenose sono esclusivamente effetti tossici, e che la capacità della coltura a produrre questi tossici va, nella vita saprofita del germe, rapidamente indebolendosi.

Sottodurale. — Iniettate sotto la dura madre, le colture in questione sono eminentemente patogene per il coniglio. Anche in questo caso succede, peraltro, una rapida attenuazione della coltura trasportata sui mezzi artificiali di nutrizione, per cui, mentre gli innesti fatti direttamente col materiale originale o con le prime generazioni successive (fino alla 6^a) uccidono in 1-3 giorni, le stesse colture negli ulteriori passaggi danno solo fenomeni di malattia, che divengono sempre meno gravi e più facilmente risolvibili, a misura che ci si allontana nei trapianti su mezzi artificiali di nutrizione dalla coltura avuta direttamente dall'uomo, fino a che in ultimo rimangono del tutto innocue.

La dose mortale nelle iniezioni sottodurali è molto piccola, scendendo fino ad $\frac{1}{32}$ di coltura in blut-agar ripresa con acqua salata. I fenomeni prodotti con queste iniezioni sono: aspetto triste dell'animale con tendenza a nascondersi nelle parti più oscure della gabbia, dove rimane immobile per delle ore se lasciato tranquillo, febbre alta, diminuzione di peso, dispnea, movimenti oscillatori della testa, nistagmo, andatura barcollante paretico-spastica simile a quella del coniglio rabbioso; in ultimo accessi convulsivi con opistotono, provocato ed aggravato dalle eccitazioni esterne.

È anche opportuno rilevare qui che i fenomeni nervosi sopra citati si sono potuti ottenere anche colla iniezione subdurale nel coniglio del siero raccolto dal sangue originale appena separato dal coagulo; fenomeni, peraltro, che si presentavano solo in modo transitorio senza condurre mai alla morte dell'animale.

Alla sezione dei conigli morti in seguito alla iniezione subdurale di coltura, si trova solo arrossamento del cervello e una piccolissima raccolta di essudato gelatinoso sopra la piamadre in corrispondenza del punto iniettato. Tutti gli altri visceri sono apparentemente sani. Nell'essudato anzidetto e nel sottostante cervello si vedono numerosi germi, e positiva riesce anche la relativa coltura.

Il sangue preso dal cuore rimane del tutto sterile o dà luogo a rarissime colonie.

d) *Cavia.* — In questo animale, tanto la iniezione sottocutanea della coltura in questione, quanto la endoperitoneale, ne determinano la morte in modo lento, con soli fenomeni tossici, che si rivelano specialmente per un profondo e progressivo dimagrimento.

Dunque la coltura pura avuta direttamente dal sangue e dal liquido cefalorachidiano della Bellotti è patogena per gli animali da laboratorio e con questa scala di sensibilità:

1° Topolino. 2° Topo decumano. 3° Coniglio. 4° Cavia.

Nel coniglio, peraltro, la coltura riesce mortale solo quando è portata in contatto diretto col cervello.

Finalmente l'azione patogena di tale coltura si attenua molto rapidamente col suo passaggio sui mezzi artificiali di nutrizione; i fenomeni che determina sono febbre, diminuzione del peso corporeo e particolari fenomeni nervosi paralitico-spastici.

OSSERVAZIONE 2^a (Frenosi pellagrosa). — Riportiamo per prima la storia clinica quale ottenemmo dalla cortesia del prof. Brugia, direttore del Manicomio provinciale di Bologna in Imola; questa riguarda certo Cavicchi Giuseppe fu Antonio e fu Zuffa Violante, di anni 46, nato a S. Maria in Duno e residente a Baricella

fino dal 1° novembre 1855, operaio povero, coniugato. Ammesso nel manicomio il 21 gennaio 1899, morto il 10 febbraio dello stesso anno alle ore 23,20.

Anamnesi — Non si conoscono disposizioni morbose ereditarie. Il Cavicchi, che è stato di carattere sempre quieto, non ha sofferto per l'addietro malattie mentali; condusse costantemente vita faticosa e stentata, cibandosi male. Secondo riferisce chi l'accompagnò al manicomio, parrebbe che da moltissimi anni l'ammalato presentasse un eritema alle mani che fu giudicato effetto della pellagra.

Da un anno circa egli ha dovuto smettere di lavorare perchè preso da debolezza crescente, con denutrizione generale, e con altri sintomi morbosi (gravi vertigini, disturbi gastrici, diarrea ricorrente), per cui era costretto a starsene in letto, dal quale alzavasi solamente per andare a stento a chiedere l'elemosina.

Da quattro o cinque mesi è diventato ipocondriaco, sempre preoccupato del suo misero stato, piagnucoloso, ecc. ecc. Da otto o dieci giorni manifesta un grande disordine della mente; parla da sè in modo confuso, non dorme, tende a buttarsi dal letto; giorni addietro balzò giù ad un tratto tentando di gettarsi dalle scale.

Esame obiettivo. — Le condizioni generali di nutrizione sono deplorable; è deperito, anemico, debole di forze. Nulla di notevole all'esame dell'apparato circolatorio; catarro bronchiale diffuso; eritema pellagroso alle mani.

Non è possibile l'esame delle varie sensibilità per lo stato di grave confusione mentale dell'infermo. Le pupille sono eguali; i movimenti attivi sono scomposti e disordinati; ai movimenti passivi s'incontra un certo grado di resistenza.

Nessun disturbo nell'articolazione della parola. Riflessi rotulieni esagerati; pupillari alla luce deboli.

Riassunto dei diari, gennaio 22. — È in uno stato deplorabile; è deperito, pallido, debolissimo, ha diarrea profusa. Psicicamente si trova in uno stato di profonda depressione, con obnubilamento massimo della coscienza. Ha un delirio vago, incoerente, cangievole, ed allucinazioni vivissime di natura terrificante. Urla e grida quasi di continuo. I movimenti sono scomposti, disordinati, senza scopo.

Gennaio 26. — Il malato ha tremanti fibrillari ed è in preda ad uno stato di ipertonicità generale. Mangia pochissimo e con estrema difficoltà; non dorme affatto; è sempre confuso, delirante, allucinato. Le idee deliranti sono di auto-accusa, di rovina, di colpevolezza, di persecuzione.

Febbraio 1. — Le condizioni fisiche generali vanno peggiorando. Il polso è piccolo, frequente. Si ricorre ad iniezioni di acido fenico e di caffeina. L'infermo è ormai in stato d'incoscienza completa; emette quasi di continuo un lamento monotono o parla fra sè incoerentemente.

Febbraio 5. — Le condizioni fisiche sono gravissime; l'ammalato ha rantolo tracheale e polso filiforme.

Febbraio 10. — Il Cavicchi muore oggi in istato di coma.

DIAGNOSI. — Frenosi pellagrosa.

Esame microscopico. — Di questo caso potemmo esaminare solo il liquido cefalo-rachidiano raccolto dal vivo colla puntura alla Quincke, nella quantità di 4-5 cc. circa, e lasciato per alcuni giorni nel termostato alla temperatura di 35-37° C.

Quando ci fu dato questo liquido erano già passati 3-4 mesi dacchè era stato raccolto; esso appariva limpido, trasparente, acquoso, con leggero sedimento al fondo del tubo, di aspetto pulvurulento, biancastro.

Innesti fatti con questo materiale, dato il lungo tempo trascorso dalla sua raccolta, riescirono sempre negativi, anche se fatti in sangue di coniglio.

Peraltro l'esame microscopico fece riconoscere nel sedimento germi perfettamente eguali per grossezza, forma e disposizione a quelli del caso precedente. Tali microrganismi si coloravano bene con gli ordinari colori di anilina e non resistevano alla decolorazione col metodo Gram.

Disgraziatamente per la loro morte ci venne a mancare lo studio relativo alle proprietà biologiche, colturali, ed al potere patogeno di questo germe, che dal lato microscopico non si sarebbe saputo differenziare da quello dell'osservazione 1^a.

OSSERVAZIONE 3^a (Frenosi pellagrosa). — Dobbiamo al prof. Tambroni, direttore del Manicomio di Ferrara, che qui ringraziamo sentitamente, lo studio di questo caso, che ci appare oltremodo interessante, anche perchè essendo stato più largamente studiato dei precedenti, il primo compreso, rende più completa la conoscenza sul germe che fu oggetto dei nostri studi.

Storia clinica. — Mazzini Francesco, di anni 57, di Argenta (Ferrara), operaio diurnista. Entrato nel Manicomio provinciale di Ferrara il 27 aprile 1904, morto il 1^o maggio successivo.

Anamnesi. — L'infermo di cui è questione ebbe una sorella ricoverata nello stesso Ospedale di Ferrara; da sei anni è costretto a vivere miseramente chiedendo l'elemosina; non pare abbia sofferto mai di altre malattie di un qualche rilievo. Da 25 anni il Mazzini soffre di pellagra; peraltro i sintomi cerebrali comparvero soltanto ultimamente.

Stato presente. — Il malato entra nel manicomio in gravi condizioni; magro, emaciato, è in preda a prostrazione generale; è incosciente, non parla.

Si nota arrossamento ed abbondante desquamazione epidermica al dorso delle mani ed al naso. Poco dopo l'ingresso nell'istituto ha avuto un accesso di convulsioni toniche alla metà sinistra del corpo, preceduto da grida; ha stipsi ostinata; rifiuta di mangiare per cui si deve alimentare forzatamente. L'esame del sistema nervoso non è possibile per le condizioni del paziente.

Dopo la sua accettazione nel manicomio, le condizioni generali dell'infermo, che dapprima sembravano migliorate, andarono rapidamente aggravandosi, finchè al 1^o maggio a ore 23,30 ne avvenne la morte sotto i fenomeni di esaurimento.

Autopsia, praticata il 2 maggio, circa 16 ore dalla morte. — Atrofia e pigmentazione della pelle al dorso delle mani da pregresse dermatiti. Plagio-cefalia occipito-parietale sinistra. Nulla di anormale nella dura madre e nei seni; forte iperemia dei vasi meningei; liquido cefalo-rachidiano abbondante, limpido. Nel cervello iperemia generalizzata senza nessuna lesione a focolaio, nè fatti di ateromasia; idrope dei ventricoli laterali. Nessuna alterazione apprezzabile nel midollo spinale.

Cuore e pericardio normali; nessuna traccia di ateromasia nei grossi vasi.

Edema polmonare dal lato sinistro; antiche aderenze pleuriche e deposizione di osteofiti dal lato destro.

Tumore cronico di milza con perisplenite adesiva.

Iperemia passiva e degenerazione grassa del fegato.

Reni: degenerazione grassa della sostanza corticale, iperemia della midollare.

Stomaco: leggero catarro con ectasie venose.

Intestino: atrofia di tutta la mucosa, specialmente del tenue, ectasie venose.

In qualche punto dell'intestino la parete è estremamente sottile; le placche del Peyer sono pochissimo appariscenti ed in alcuni punti sembrano del tutto scomparse.

Nella vescica e negli organi genitali nessuna alterazione degna di nota.

Pezzi dei vari organi vengono per lo studio istologico fissati in formol 10% ed in sublimato acetico.

Per le ricerche batteriologiche si fanno colture coi seguenti materiali:

1. *Sangue*, preso dal *vivo* dalla vena mediana del braccio il 30 aprile mattina, ossia 36 ore prima della morte.
2. *Sangue*, preso dal cuore del *cadavere*.
3. *Cervello*, regione frontale, parietale e occipitale.
4. *Liquido cefalo-rachidiano*.
5. *Milza*.
6. *Fegato*.
7. *Pancreas*.
8. *Reni*.

Da tutto questo materiale si ottenne lo sviluppo dello stesso germe; in coltura pura dal sangue preso dal vivo e dal cadavere, e dagli innesti fatti colla milza, col fegato, col cervello (reg. frontale e parietale); in coltura impura, per scarse colonie di un cocco giallognolo dell'aria, nei tubi seminati col rene, colla porzione occipitale del cervello, col liquido cefalo-rachidiano; in coltura impura, per presenza di poche colonie dello stesso cocco e per alcune del coli, nelle seminazioni fatte col pancreas.

In questa, come nella osservazione 1^a, mai si ebbe nelle varie colture sviluppo di qualsiasi specie di muffa.

Caratteri morfologici. — In generale i caratteri microscopici del germe isolato allo stato di purezza erano in questo caso perfettamente eguali a quelli dei due casi precedenti; solo che qui avemmo occasione di metterli meglio in luce e seguirli più da vicino in tutte le fasi evolutive ed involutive del germe stesso.

Dobbiamo far notare, anzitutto, che questo microrganismo presenta una grandissima polimorfia di sviluppo, la quale si manifesta, tanto negli elementi isolati, quanto in quelli riuniti a catena, per cui è solamente col seguirne tutte le trasformazioni che si può fissare la sua forma fondamentale e classificarlo fra i bacilli, e più propriamente fra i bacilli con disposizione a catena (streptobacilli).

Forme isolate — Fra queste si rinvennero elementi rotondi come cocchi, forme rotonde divise in mezzo da una linea chiara coll'aspetto dei gonococchi, forme ovoidali con gli estremi piuttosto appuntati, forme di diplococchi con gli estremi liberi a fiamma di candela simili ai diplococchi del Fränkel, forme a bozzolo con gli estremi arrotondati, la sostanza colorante portata ai poli e con leggero strozzamento mediano, finalmente forme decisamente bacillari, rappresentate da sottili e corti bacilli con

estremi arrotondati, alcune volte con rigonfiamento terminale da uno o da ambedue i lati; rigonfiamento che tiene più fortemente il colore e che dà al bacillo l'aspetto di un piccolo chiodo o di un piccolo manubrio (tav. I. figg. 1, 2, 3).

Tutte queste figure, che riconoscono la loro ragione nella rapidità maggiore o minore con la quale avviene la divisione della forma elementare, primitiva, si comprendono abbastanza bene quando si seguano le varie fasi di sviluppo del germe.

Così, se la divisione colpisce il germe ancora nella sua forma sferica, allora vengono fuori figure a gonococco; se tale divisione avviene più tardi, quando le forme di cocco si sono già trasformate in elementi ovoidali con estremi appuntati, allora per lo strozzamento mediano si producono diplococchi simili a quelli del Fränkel e solo un poco più piccoli di questi; finalmente se la divisione è ancora più tardiva, allora appaiono forme decisamente bacillari, di cui alcune per un leggero strozzamento centrale e per lo spostamento della sostanza colorante verso i poli acquistano la figura di bozzolo.

Le figure a chiodo od a manubrio (tav. I, figg. 1, 3), che si riscontrano solo in scarso numero, sembrano essere forme anormali od involutive.

La frequenza delle varie forme descritte sta in rapporto, da un lato con le diverse fasi di sviluppo della coltura, dall'altro con i mezzi di nutrizione usati.

Così, nelle colture molto giovani, predominano le forme a cocco e le forme ovoidali, con le rispettive divisioni a gonococco, o a diplococco simile al diplococco del Fränkel; invece, quando la coltura è completamente sviluppata, allora predominano le figure più allungate, decisamente bacillari, di cui alcune hanno uno strozzamento centrale e la sostanza colorante portata ai poli.

Eguualmente, nei mezzi di nutrizione liquidi e nel sangue, predominano le forme rotonde, ovoidali o a diplococco lanceolato, mentre nei substrati solidi (blut-agar) hanno il predominio le figure distintamente bacillari.

Studiata così la forma elementare del germe e vedute le variazioni di aspetto che questo può assumere nelle diverse fasi di sviluppo, riesce facile d'intendere quello che accade quando tali elementi si riuniscono in catena.

Forme riunite a catena. — Diremo per prima che tali catene sono di varia lunghezza (più lunghe nel brodo, più corte nel sangue); che sono ondulose, convolute, ramosse, talora riunite in grossi accumuli con intreccio così stretto delle catene che li costituiscono, da determinare dei veri ammassi di elementi, simili per la forma e disposizione agli stafilococchi (tav. I, fig. 4).

Queste catene raramente sono formate da elementi rotondi, ed allora assumono tutto l'aspetto degli streptococchi (tav. I, fig. 7); più spesso la forma di streptococco è solo apparente, perchè un più attento esame arriva a dimostrare che quelli i quali appaiono come cocci, e che hanno di questi un contorno meno netto, più sfumato, non rappresentano effettivamente che la sostanza colorante di un corto bacillo portata verso i poli e divisa da una linea chiara mediana (tav. I, fig. 8).

Così tali catene, anzichè da cocci, sarebbero formate da corti bacilli con la sostanza colorante portata verso i poli e con una linea chiara mediana di divisione; per cui ogni catena non sarebbe costituita, come negli streptococchi, da tanti individui separati, ma bensì da tante coppie di elementi, di cui ciascuna coppia appartiene allo stesso individuo.

Questo spiega perchè spesso, quando tale separazione della sostanza colorante avviene in elementi poco allungati, la catena apparisca formata dalla riunione di diplococchi, simili nell'aspetto ai gonococchi, o si presenti costituita anche da elementi il cui diametro maggiore è normale a quello della catena e dal cui insieme risulta una disposizione ed un aspetto *che richiama alla mente quello degli anelli del tenia* (tav. I, fig. 8).

Invece, quando la divisione è meno tumultuosa, e colpisce individui già in fasi più avanzate di sviluppo, allora la catena stessa risulta formata da elementi più allungati, da veri bacilli, tanto con la sostanza colorante uniformemente ripartita, quanto con la sostanza colorante portata verso i poli e con leggero strozzamento centrale (tav. I, figg. 5, 6).

Per ultimo, nelle colture più vecchie, si trovano nelle catene forme d'involuzione, rappresentate dalla mancanza di colorabilità di alcuni anelli e da grosse gocce fortemente colorabili che si formano sul corso od agli estremi della catena (tav. I, fig. 9).

In conclusione, queste colture sono date da un bacillo libero o riunito in catena (streptobacillo), la cui forma e dimensione va da quella di un piccolo cocco appena allungato a quella di vere figure bacillari, il cui diametro longitudinale è 2-4 volte superiore a quello trasversale.

Caratteri biologici. — I bacilli descritti, tanto isolati quanto riuniti a coppie, sono discretamente mobili; e la loro mobilità si manifesta, non solamente con movimenti oscillatorî, ma anche con veri e propri movimenti di traslazione.

Così, alla osservazione in goccia pendente, spesso si vedono bacilli affondarsi nel liquido e sparire dal campo del microscopio; ora invece si vedono incurvarsi, avvicinarsi al coprioggetti coi due poli rivolti verso l'osservatore, eseguendo movimenti oscillatorî e di traslazione simili a quelli che si rilevano esaminando, nelle stesse condizioni, il vibrione del colera.

Le corte catene di 6-8 elementi sono pure mobili, ma meno dei germi liberi. Per contro le lunghe catene sono immobili e animate solo da un leggero movimento oscillatorio che sembra comunicato dal liquido.

Colorazione. — I germi in parola si colorano presto e bene col bleu di metilene di Löffler, col violetto di metile, colla fucsina idro-alcoolica e colla fucsina di Ziel; resistono alla decolorazione col metodo Weigert, purchè non sia eccessivamente spinta (e più le forme giovani di quelle vecchie); non resistono affatto alla decolorazione col metodo Gram.

Caratteri colturali.

a) *Sangue.* — Il sangue, tanto preso dal malato, quanto raccolto dal cuore del cadavere, separa una grossa cotenna fibrinosa e, a differenza del sangue di uomo sano, diviene prontamente di un colore scuro simile a quello del sangue asfittico, od a quello che lo stesso sangue assume per la coltura dello pneumococco del Fränkel. Più tardi il colore rosso-scuro si diffonde al poco siero che si separa, che prende la densità e l'aspetto dello sciroppo di more, mentre il coagulo lentamente si discioglie. La coltura raggiunge il suo massimo sviluppo in due giorni.

Gli stessi caratteri conservano i successivi trapianti in sangue umano, o in sangue di coniglio, defibrinato o no. Si osserva solo che in questi trapianti lo sviluppo della

coltura è più pronto, essendo già al suo massimo dopo 24-36^h, e che il coagulo fluidifica sempre più lentamente fino a che, dopo alcuni passaggi, non fluidifica più.

Le colture sui *mezzi artificiali di nutrizione* hanno questo di particolare, che senza l'aggiunta di una traccia di sangue, tanto di uomo, quanto di coniglio, riescono sempre negative.

b) Brodo comune, con aggiunta di sangue o con innesti da coltura in sangue. Dopo 24^h intorbidamento uniforme per piccoli fiocchetti come quelli dello streptococco con ricco sedimento al fondo, che è tanto più abbondante quanto maggiore è la quantità di sangue aggiunto. Trascorse 48^h dall'innesto, la coltura è intieramente sedimentata ed il liquido del tutto rischiarato. Quando il sangue è separato nettamente dal brodo e raccolto nel fondo del tubo, si vede chiaramente che la coltura determina, prima una manifesta emolisi, poi una trasformazione del colore del sangue che da rosso-vivo assume una colorazione giallo-bruna. Tanto l'emolisi, quanto il cambiamento del colore, sono più rapidi nelle colture in brodo avute da innesti fatti direttamente da coltura in sangue: sono invece più lenti nelle successive generazioni in brodo-sangue.

In ogni caso le accennate trasformazioni del colore finiscono sempre per dare al sedimento della coltura, in modo più o meno sollecito, una tinta giallo-bruna.

Le colture in brodo divengono prontamente acide, come quelle dello pneumococco del Fränkel fatte nello stesso mezzo di nutrizione (brodo-sangue).

I trasporti in brodo comune di una prima generazione in brodo-sangue, rimangono del tutto sterili.

All'esame microscopico delle colture in sangue e in brodo-sangue, si vede che le catene e i gruppi di catene si dispongono attorno ai globuli rossi, come avviene nelle colture dello pneumococco del Fränkel fatte negli stessi terreni di nutrizione.

c) Brodo umano, ottenuto col semplice infuso di muscoli di uomo, presi da un arto amputato per lesione traumatica che aveva richiesto l'operazione immediata, e senza aggiunta di peptone e di sali; reazione neutra o debolissimamente alcalina.

Questo mezzo di nutrizione dà coltura più scarsa e fiocchi molto più piccoli della corrispondente coltura in brodo comune. Dopo 24^h il brodo apparisce appena intorbidato, dopo 48^h è di nuovo rischiarato e nel fondo del tubo si è formato uno scarso sedimento, bianco pulverulento, molto leggiero.

Anche nel brodo umano la reazione del mezzo diviene fortemente acida, peraltro l'acidità è meno forte di quella che si ha nel brodo comune di vitello.

Aumentando la reazione alcalina del brodo si peggiora, anzi che migliorare, la condizione di sviluppo del germe, che nasce sempre più stentatamente o non si sviluppa affatto.

Nel brodo di uomo, per quanto la coltura sia sempre molto scarsa, gli innesti, a differenza di quelli in brodo comune di vitello, riescono positivi anche nei successivi passaggi fatti regolarmente ogni 24^h; e noi abbiamo potuto seguirli fino alla 5^a gen., dopo la quale la prova non fu più continuata.

Peraltro, se tali trapianti in brodo umano, invece di farsi ogni giorno, si ripetono con qualche ritardo, allora il risultato riesce costantemente negativo.

d) Agar, con e senza aggiunta di glicerina; le colture riescono positive solo quando l'innesto viene fatto da coltura in sangue o si aggiunge un po' di sangue di

uomo o di coniglio al mezzo di nutrizione. In caso diverso, la coltura in agar semplice od in agar glicerinato si rende sempre più scarsa nel successivo trapianto, riducendosi nella 2^a gen. a due od a pochissime colonie, e rimanendo affatto sterile nella 3^a.

La coltura in agar-sangue (blut-agar) raggiunge il suo massimo sviluppo entro 24^h; a luce diretta si mostra costituita da tante piccole colonie puntiformi, biancastre, o bianco-grigiastre, mai confluenti, a contorno netto (tav. II, fig. 5); a luce riflessa appare formata da minutissime gocciollette, come piccole perle, disseminate sulla superficie dell'agar, trasparenti, abbastanza rilevate sul mezzo di nutrizione, a superficie secca, lucente. Solo negli innesti fatti direttamente dalle colture originali in sangue, forse per il trasporto di materiale più conveniente, la coltura si mostra assai più ricca, le singole colonie sono più accoste fra loro e appena distinte le une dalle altre sui bordi della coltura, in modo che questa appare nella massima parte come un velamento sottile, grigiastro, assai trasparente, a superficie lucida (tav. II, fig. 6); velamento, peraltro, che a luce riflessa risulta costituito da piccole gocciollette, accoste ma non mai fuse fra loro. Questo velamento, poi, si fa tanto più sottile ed a colonie tanto più distinte, quanto più negli innesti in agar da sangue originale ci si allontana dal momento in cui il materiale fu raccolto dall'uomo.

Anche innesti in agar da sangue di coniglio non defibrinato, proveniente direttamente dal sangue originale, danno dei velamenti, ma così sottili che appena si arrivano a distinguere senza lente.

Invece, nelle colture in agar provenienti dalle successive generazioni in sangue di coniglio e di uomo, le colonie si fanno più discoste fra loro, tanto da non offrire più l'aspetto di un velamento, ma di una coltura più o meno riccamente disseminata alla superficie del mezzo di nutrizione. E questo tipo di coltura è quello che si può ottenere indefinitamente con la conservazione del virus, come facciamo, in sangue di coniglio, e con il successivo passaggio sull'agar della coltura in sangue.

Per converso, se il virus si conserva con semplici passaggi in agar-sangue, questi, anche se ripetuti ogni giorno, danno colture sempre più scarse, in cui le colonie si fanno sempre più rade e trasparenti; ciò che si verifica anche in maggior proporzione se all'agar era stata aggiunta della glicerina. Deve quindi ritenersi che l'agar-sangue sia un mezzo meno adatto del sangue puro per la conservazione della coltura.

Finalmente, riguardo alla grossezza delle singole colonie in agar, noi abbiamo potuto osservare che quelle avute direttamente dai vari organi dell'uomo, specie se non troppo confluenti, sono assai più grosse e meno rilevate di quelle descritte, che si hanno dalle ordinarie colture in sangue o dai successivi passaggi in blut-agar; e che, per converso, quando la coltura sta per esaurirsi, perchè innestata sopra mezzi impropri, le colonie si fanno così piccole, così trasparenti, che non si vedono più ad occhio nudo.

Per ultimo deve rilevarsi che dopo lunga conservazione in sangue di coniglio (1 anno), la coltura nasce quasi esclusivamente sotto forma di catene con pochissimi elementi liberi aventi la figura dei diplococchi del Fränkel.

e) Gelatina, con peptone e zucchero. Nelle infissioni in gelatina alla temperatura di 25° C., il primo accenno di sviluppo della coltura si osserva dopo 48^h, sotto forma di una bandelletta grigiastra lungo la puntata, finamente punteggiata, a contorno irregolare.

A completo sviluppo, cioè dopo 8-10 giorni dall'innesto, si vede lungo l'infissione stessa un nastrino bianco-grigiastro, finamente punteggiato, con bordi rilevati, irregolari, per la maggiore grandezza e sporgenza delle colonie periferiche di fronte a quelle delle parti centrali della coltura (tav. II, figg. 7 e 8).

Nessuno sviluppo alla superficie della gelatina, nessuna fluidificazione o colorazione del mezzo, anche dopo lunghissima osservazione. Per contro, nelle colture invecchiate, le colonie delle parti più profonde, che sono ordinariamente più grosse e più distinte le une dalle altre, prendono una colorazione rossastra con tendenza al rosso-mattone.

Le colture in gelatina nascono solamente se innestate direttamente da sangue e non sono positive nei successivi trapianti; si sviluppano tanto meglio e tanto più sollecitamente quanto più vicina a quella originale, avuta dal vivo o dal cadavere, è la coltura che ha servito per l'innesto.

Invece, innesti fatti in gelatina da coltura in brodo-sangue od in agar-sangue, rimangono costantemente sterili. E sterile ancora rimane il trapianto fatto da sangue nella gelatina speciale che serve in questo Istituto per la coltura del b. del tetano.

f) Colonie in agar (blut-agar). — Dopo 24-48^h, a luce riflessa, le colonie appaiono rotonde, rilevate, grigio-giallognole, a contorno netto, con la parte centrale più scura, per la maggiore grossezza della colonia più che per un vero nucleo (tav. II, fig. 4). Così, quando si mette in fuoco la parte centrale, come è stato fatto nella figura che riportiamo, il contorno di dette colonie si presenta sottile, sfumato. Tali colonie sono sempre staccate; solo qua e là dove la confluenza è maggiore, se ne vedono alcune accoste o molto vicine fra loro, mai fuse insieme. Lasciata la coltura nel termostato le colonie non subiscono un ulteriore accrescimento nè successive trasformazioni.

A luce obliqua risulta in modo più evidente il rilievo delle colonie, che si presentano come piccole gocce, finamente granulose, di aspetto grigio-splendente, simili alle colonie dello pneumococco del Fränkel e del b. dell'influenza, delle quali ultime sono, peraltro, assai più grosse (tav. II C., fig. 1).

g) Colonie in gelatina, sviluppate alla temp. di 25° C. — Dopo 48^h ad occhio nudo si vedono nella piatta dei punticini come grani di polvere appena rilevabili, che al microscopio appaiono quali coloniette rotonde, fortemente granulose, di un colore giallognolo assai chiaro, a contorni netti, e simili nell'aspetto ai globuli bianchi. Più tardi raggiungono dimensioni maggiori, e si presentano allora come piccole colonie rotonde, a contorno netto, di colore grigio-giallognolo, a contenuto fortemente granuloso e con uno o due corpiccioli sferici nell'interno, nettamente contornati, di colore giallo-bruno; corpiccioli che, ora sono situati proprio nel mezzo della colonia, ora un poco di lato (tav. II, fig. 2). Questi corpiccioli, che occupano circa $\frac{1}{10}$ - $\frac{1}{20}$ ^{mo} dell'intera colonia, danno a questa le apparenze di una cellula fornita del relativo nucleo.

A maturazione completa le colonie divengono ancora un poco più grandi; il nucleo centrale, che si conserva di un colore più bruno delle parti rimanenti, ha perso il contorno netto ed ha invaso buona parte della colonia (circa $\frac{2}{3}$), la quale conserva il suo limite regolare, il contenuto grigio-giallognolo fortemente granuloso, nel quale il nucleo in parola passa per gradi quasi insensibili (tav. II, fig. 3).

Vitalità delle colture. — Le colture in sangue sono quelle che hanno mostrata maggiore vitalità. La coltura in sangue originale, anche dopo 3 mesi, dà trapianti in agar molto ricchi; nelle stesse condizioni le generazioni successive in sangue di coniglio, defibrinato o no, sviluppano colture assai abbondanti fino a 40 giorni dall'innesto.

Invece, le colture in blut-agar, dopo 6 giorni danno nello stesso mezzo un trapianto molto scarso, assai più scarso di quello da cui derivano; dopo 7 giorni solo qualche colonia piccolissima, e così trasparente, che appena si vede ad occhio nudo; dopo 8-10 giorni più nulla.

Le colture in brodo comune si esauriscono anche più presto delle precedenti.

Potere patogeno.

a) *Topolino* (*mus musculus albinus*). — L'iniezione sottocutanea di $\frac{1}{4}$ di coltura in blut-agar ripresa con acqua, proveniente da 1^a gen. in sangue di coniglio innestata col materiale originale (sangue) o da un passaggio di questo attraverso il coniglio, uccide in 1-4 giorni. Localmente si nota essudato gelatinoso senza emorragie, un poco più denso, quasi puriforme, nei casi più lenti; milza ingrossata e scura; gli altri visceri apparentemente normali. All'esame diretto dell'essudato sottocutaneo si vedono germi in grande quantità, piccolissimi, assai più piccoli di quelli della coltura da cui derivano, quasi puntiformi, riuniti di solito in grossi ammassi; i pochi elementi liberi sono disposti a coppie ed hanno la forma e tutto l'aspetto del diplococco del Fränkel.

Nel sangue si nota pure qualche germe libero, ma così piccolo che appena può distinguersi.

Culture positive si ottengono dall'essudato sottocutaneo e dal sangue preso dal cuore, più ricche dal primo che dal secondo, dal quale si hanno appena 5-6 colonie per tubo.

b) *Coniglio*. Sottocutanea. — Iniezione di $\frac{1}{4}$ di coltura in blut-agar da sangue originale determina solo un aumento pronto ma transitorio della temperatura, che in 5-6^h sale da 39,6 a 41,2° C.; più una discreta infiltrazione locale, la quale termina con una produzione di un nodulo grosso come una nocciuola, a contenuto puriforme, di difficile risoluzione.

Endovenosa. — La stessa coltura iniettata direttamente in circolo produce aumento di temperatura di più lunga durata e dimagrimento dell'animale, che in pochi giorni mostra una diminuzione di peso di oltre 200 gr.. Inoltre, al 5° giorno di esperimento, si manifesta una paresi al treno posteriore con contrattura spastica di uno dei due arti; paralisi spastica che al 15° giorno si è diffusa ad ambedue gli arti posteriori, tanto che l'animale per camminare è costretto a strisciare col treno posteriore sul terreno. Contemporaneamente si avverte atrofia della parte paralizzata e caduta del pelo a fiocchi.

Subdurale. — Iniezione sotto la duramadre fatta con blut-agar proveniente da coltura originale (sangue, rene), come quelle iniezioni eseguite con blut-agar avuto da un primo passaggio in sangue di coniglio, tutte, fino alla 6^a gen. nello stesso mezzo nutritivo, uccidono costantemente, alla dose di $\frac{1}{8}$ dell'intera coltura, in un tempo che va da 1 a 3 giorni.

Anche qui si osserva che, quanto più ci si allontana dal momento in cui il materiale originale fu raccolto dall'uomo, quanto maggiore è il numero dei passaggi sull'agar che la stessa coltura ha subiti, tanto meno gravi sono i fenomeni che si determinano nell'animale, tanto più lungo è il tempo necessario per produrre la morte.

Così, una prima generazione in blut-agar di 24^h avuta direttamente dal sangue preso dal malato, ma ottenuta da questo sangue dopo 15 giorni che era stato raccolto, uccide per iniezione subdurale in meno di 24^h, mentre una 2^a gen. in blut-agar di eguale età e derivante dallo stesso materiale, per quanto ottenuta con innesto praticato 5 giorni prima, uccide solo in un giorno e mezzo, ed in tre giorni e mezzo una 6^a gen., pure in blut-agar, avuta dalla coltura del rene dello stesso ammalato, vecchia di 17 giorni.

Innesti in blut-agar avuti da un 1° passaggio in sangue di coniglio, per breve tempo si comportano come quelli ottenuti dal materiale originale, e come questi uccidono rapidamente. (1-2 giorni).

Invece non determinano nessun disturbo, o solo leggeri fenomeni di malattia, le colture in brodo fatto con carne di uomo; egualmente quelle in blut-agar avuta da passaggi in sangue di uomo sano, od anche da passaggi fatti attraverso il corpo del coniglio, nel quale il virus ripreso dal sangue subisce una attenuazione piuttosto che un rinforzo.

I fenomeni presentati dagli animali furono sempre gli stessi; elevazione rapida della temperatura, diminuzione del peso del corpo, forte affanno, tremori generali, accompagnati nei casi molto acuti da un vero stato d'ambascia dell'animale, nistagmo, movimenti oscillatori del capo, digrignamento dei denti, paresi del treno posteriore, unita spesso a spasmo di uno o di ambedue gli arti corrispondenti, da cui ne deriva una andatura a scatti simile a quella che si osserva nel coniglio rabbioso. L'affanno ed i tremori aumentano in seguito ad eccitazioni esterne. In ultimo si ha paralisi completa della metà del corpo, convulsioni generali con opistotono molto accentuato, e sotto una di queste convulsioni avviene la morte.

Una cosa da rilevare ancora si è, che questi animali, i quali abitualmente stanno nascosti nella parte più oscura della gabbia, cercano avidamente l'acqua nella quale rimangono a lungo con il muso e le zampe anteriori, e che negli ultimi momenti della vita sono costantemente bagnati in tutto il corpo, quasi fossero istintivamente attratti dall'acqua stessa o vi trovassero sollievo.

Anzi alcune volte si rinvergono gli animali morti, con la testa e con tutte le parti anteriori del corpo nella bacinella dell'acqua, come vi fossero annegati.

Alla sezione si riscontra iperemia delle meningi e del cervello dal lato operato, e, quando la morte non è stata troppo rapida, si osserva una piccola chiazza di essudato gelatinoso o puriforme, in corrispondenza del punto nel quale è stata praticata l'iniezione. Si nota poi aumento del liquido sottoaracnoideo e di quello dei ventricoli, che mostrasi un poco più torbido del normale; opacamento del pericardio con discreta quantità di liquido citrino nel suo interno; cuore fortemente disteso contenente sangue scuro, coagulato, o che coagula subito dopo raccolto, separando una grossa cotenna fibrinosa; polmoni talora disseminati da numerosi focolai emorragici, specie in corrispondenza dei loro bordi; intestino tenue fortemente iperemico, contenente

una discreta quantità di materie diarroiche; fegato variegato per chiazze giallognole di degenerazione grassa, che si alternano a chiazze scure, iperemiche; vescica enormemente distesa da orina. La milza, i reni, le capsule surrenali apparentemente normali.

L'esame microscopico lascia vedere numerosissimi germi nell'essudato corrispondente alla parte iniettata e nel liquido cefalo-rachidiano; nel primo in forma di diplococchi e di catenelle, tanto liberi quanto racchiusi entro i globuli bianchi.

Il sangue dà risultato negativo all'esame diretto ed in coltura fatta per strisciamento sull'agar con scarsa quantità di materiale (una öse); invece lo stesso sangue raccolto dal cuore e dalla cava ascendente, nella quantità di 2-3 cc.³, sviluppa costantemente una coltura positiva.

Peraltro le colture che si ottengono dal sangue sono sempre meno ricche e meno attive di quelle che si hanno dal cervello.

c) *Cavia*. — In questo animale la iniezione sottocutanea od intraperitoneale di una prima generazione in blut-agar (1^a-2^a) avuta direttamente dal materiale originale, nella quantità di $\frac{1}{3}$ - $\frac{3}{8}$ della intiera coltura ripresa con acqua salata, determina fenomeni lenti di malattia e la morte in un tempo molto lungo (46-48-52 giorni).

I fenomeni presentati dagli animali sono: arrossamento e leggiera tumefazione nel punto iniettato, quando l'iniezione è fatta sotto la pelle; dimagrimento dell'animale fino allo stato di un vero marasma; torpore di qualsiasi movimento, spontaneo o provocato; pelo arruffato; affanno e diarrea; tremori generalizzati.

Più tardi si determina una vera incoordinazione dei movimenti con retrazione manifesta degli arti posteriori, per la quale si verifica una speciale andatura a scatti. Finalmente alcune volte, negli ultimi momenti della vita, si osservano fatti trofici agli occhi (cheratite purulenta, blefarite crostosa bilaterale).

Alla sezione si notano emorragie diffuse nel connettivo sottocutaneo e intermuscolare, che talora si estendono dal punto della iniezione (dorso) a punti molto lontani (scapole, radici degli arti anteriori); pericardio opacato ed ingrossato; cervello, fegato, milza, reni, capsule surrenali apparentemente normali; emorragie nelle pareti della vescica.

Importante poi è il reperto dell'intestino, che si mostra atrofico, di colore ardesiaco, per emorragie pregresse, di cui le più recenti sono a piccoli focolai e facilmente rilevabili; emorragie si hanno ancora nel duodeno e nel piloro; il contenuto intestinale è liquido e poco abbondante.

L'esame microscopico e culturale danno risultato negativo, tanto in loco, quanto nel sangue e negli organi. Sembra, quindi, che in questi casi la malattia sia data da lenta intossicazione, e sia, perciò, maggiormente paragonabile a quella che si osserva nell'uomo; intossicazione che colpisce ad un tempo il sistema nervoso, l'intestino, la pareti vasali, con particolare elezione dei vasi della pelle, dei muscoli, del tubo gastro-intestinale, delle vescica.

Reperto microscopico. — In questa osservazione (Mazzini) noi avemmo anche l'opportunità di confermare i risultati batteriologici riportati, con l'esame microscopico dei pezzi raccolti dal cadavere; esame che riportiamo qui per quanto si riferisce alla presenza dei germi nei varî organi, senza fermarci su ciò che può ri-

guardare le varie alterazioni minute da questi presentate, che del resto non offrivano particolare interesse, rientrando intieramente nelle alterazioni comuni già descritte in questa malattia.

E per prima rivolgemmo l'attenzione al sistema nervoso centrale, come quello che dal complesso dei fatti ci sembrò essere maggiormente indiziato.

Nei preparati colorati con litio-carminio per il fondo, e col metodo Weigert-Gram per i parassiti, si nota per prima una forte congestione nei vasi della piamadre cerebrale, ed attorno ad essi una scarsa infiltrazione di globuli bianchi insieme a qualche globulo rosso; gli stessi elementi si osservano in mezzo ad un detrito granulare negli spazi sottoaracnoidei circostanti, che si mostrano un poco ingranditi. Tanto nelle maglie della piamadre, quanto nel leggero essudato che occupa lo spazio sottoaracnoideo, si riscontrano dei germi eguali per forma, disposizione e dimensioni a quelli isolati con la coltura; germi che si trovano di preferenza in vicinanza dei vasi, sia riuniti in piccoli gruppi, sia irregolarmente sparsi in mezzo al tessuto della pia o nell'essudato sottoaracnoidale (tav. III, fig. 2).

Tali germi poi arrivano fino alla superficie del cervello che interessano solamente nei suoi strati più superficiali.

Nelle regioni profonde dell'encefalo (talamo ottico) si vedono dei fatti anche di maggiore interesse. Si nota, invero, che le vene di questa parte sono fortemente dilatate e che nell'interno contengono frequentemente, in mezzo al sangue, ammassi di germi coi caratteri descritti (tav. III, fig. 4); nelle vene più superficiali che stanno proprio in vicinanza dell'epitelio di rivestimento, si osserva, inoltre, che lo spazio linfatico perivascolare è spesso fortemente aumentato per la raccolta di un liquido trasparente, che spinge e comprime da un lato il vaso circostante. In ultimo, esagerandosi questo fatto, si arriva fino alla formazione di piccole cavità cistiche in mezzo alla sostanza cerebrale; cavità che contengono nel loro interno un ammasso granulare con globuli bianchi e qualche globulo rosso e con resti di tessuto cerebrale, senza che si riesca più a vedere il vaso attorno al quale si sono formate. Finalmente, alcune di tali cavità cistiche finiscono per usurare il tessuto superficiale soprastante ad a farsi strada nella cavità ventricolare, riversandovi il loro contenuto in cui si vedono gli stessi germi riscontrati nei vasi (tav. III, fig. 4).

Nella sostanza cerebrale, fuorchè alla superficie della corteccia, non si sono mai ritrovati i microrganismi in parola meno che entro i vasi (tav. III, fig. 3); vi si notano poi le solite alterazioni anatomiche comuni, cioè infiltrazioni leucocitarie, tanto attorno ai vasi, quanto attorno alle cellule nervose.

Nel midollo spinale si rilevano gli stessi fatti notati nel cervello; cioè presenza di germi nell'interno dei vasi della pia che alcune volte occludono completamente (tav. III, fig. 1); infiltrazione degli stessi germi nelle maglie di essa membrana e nello spazio aracnoideo circostante, dove si nota uno scarso essudato; arresto dei germi in parola alla superficie della sostanza bianca entro la quale non penetrano mai.

All'infuori del sistema nervoso centrale, la milza solamente dette reperto positivo nei riguardi batterioscopici; negli altri organi ricordati si riscontrarono esclusivamente le note alterazioni istologiche delle forme gravi di pellagra.

Nella milza, oltre alle solite lesioni caratteristiche del tumore cronico (splenite cronica indurante, persplenite) si scorgono nella polpa rari accumuli di germi, identici a quelli del cervello; germi che da questi ammassi si spargono e s'infiltrano per breve tratto nel tessuto circostante (tav. III, fig. 9).

Ma quello che in tali ricerche offre maggior interesse, è senza dubbio la dimostrazione della presenza nell'intestino degli stessi germi riscontrati nel cervello e nella milza e coltivati dai vari organi.

Infatti le sezioni microscopiche dell'intestino (tenue), oltre alla solita atrofia della mucosa, all'estesa caduta dell'epitelio di rivestimento ed alla necrosi di alcuni villi, che male si colorano col carminio o sono andati perduti, lasciano vedere, accanto a germi banali, una grandissima quantità di piccoli batteri a forma di diplococchi simili ai diplococchi del Fränkel; e tanto isolati quanto riuniti in ammassi o disposti in catena (tav. III, figg. 5, 6, 7, 8).

Questi germi, che in alcune parti sono in numero predominante, e che per forma, disposizione e grandezza somigliano perfettamente a quelli descritti, si osservano, non solamente alla superficie dell'intestino, ma invadono anche le glandole tubulari, accumulandosi specialmente nel fondo di esse ed interessando da ogni lato il loro epitelio, tanto da ritrovarsi facilmente fra questo e la sottostante mucosa (tav. III, fig. 7).

Inoltre i germi in parola si rinvennero, pure in buon numero, nella mucosa, dove più qua e più là formano ammassi o infiltrazioni, e tanto nel tessuto mucoso dei villi, quanto in quello della parete (tav. III, figg. 5 e 7); finalmente in alcune parti essi arrivano anche nel tessuto sottomucoso nel quale formano dei cordoncini che alloggiavano negli spazi compresi fra i fasci delle fibre di cui seguono la direzione (Tav. III, fig. 8).

Per ultimo, non è fuori di luogo ricordare che nelle numerose sezioni microscopiche fatte dai vari organi, mai si riscontrarono spore di muffe.

In rapporto a quanto è stato osservato nell'uomo, è opportuno riportare qui quello che fu da noi rilevato colla osservazione microscopica nel cervello del coniglio iniettato sotto la duramadre colla coltura isolata dalla precedente osservazione; ciò, oltre a confermare l'azione elettiva del germe per alcune parti del sistema nervoso, varrà anche a rendere più stretta l'analogia fra quanto avviene naturalmente, nelle forme acutissime di pellagra, e quanto si può sperimentalmente provocare negli animali nelle forme altrettanto gravi e rapidamente mortali.

Le sezioni del cervello di conigli operati nel modo indicato e morti in 1-3 giorni, ci dimostrano, infatti, che la coltura iniettata esercita un'azione necrotizzante nel cervello, corrispondente al punto della praticata iniezione (tav. IV, figg. 13-14); e che in questa zona, come nella pia madre circostante, che si mostra fortemente congesta ed infiltrata di globuli bianchi, si vedono disseminati e raccolti in cumuli i germi in questione, proprio come avviene nell'uomo (tav. IV, figg. 14-16).

Si trova, inoltre, che gli stessi germi aggrediscono anche la parete dei ventricoli, il cui epitelio di rivestimento è intieramente caduto e sostituito da un essudato ricco di globuli bianchi, nel quale i microrganismi in parola hanno una prevalente disposizione a catena e formano dei grossi accumuli (tav. IV, fig. 15).

Dunque nel coniglio, come nell'uomo, il germe isolato dimostra un'azione elettiva per il cervello, e specialmente per le sue meningi sottili e per le sue cavità interne. Ciò equivale a dire che esso trova favorevoli condizioni di sviluppo nel liquido cefalo-rachidiano.

2ª Serie. Forme subacute terminate egualmente colla morte (frenosi pellagrosa). — Di questa serie noi avemmo occasione di esaminare due casi solamente.

OSSERVAZIONE 1ª, che dobbiamo egualmente alla cortesia del prof. Tambroni direttore del Manicomio di Ferrara.

Storia clinica. — Questa osservazione riguarda certo Chendi Antonio di anni 48, nato a Gradizza Comune di Copparo, ammogliato con figli, bracciante, illetterato. Nessuno nella famiglia del malato fu alienato di mente, nè ebbe malattie nervose.

Il Chendi è di carattere cupo e violento nello stesso tempo, ha intelligenza ottusa, mancanza assoluta di qualsiasi educazione, si occupa di lavori di campagna piuttosto faticosi, si nutre principalmente di polenta, beve sempre acqua ed anche questa poco buona.

Il malato è di costituzione organica piuttosto robusta, per quanto dimori in pianura umida ed in abitazione malsana; non ha mai sofferto malattia d'importanza tranne l'intossicazione maldica che l'affligge da molto tempo e per la quale fu per quattro volte ricoverato nel Manicomio di Ferrara, e sempre con fenomeni di frenosi pellagrosa.

L'ultima di queste fu allontanato da casa perchè colpito di nuovo da uno stato maniaco con tendenza ad offendere la moglie, i figli e gli abitanti della stessa casa. Entrò nel manicomio il 30 aprile 1904.

All'esame del paziente si rileva un leggero stato confusionale, che si manifesta più che altro come uno smarrimento e con fenomeni di depressione; non vi sono allucinazioni, ma il malato ricorda di averle avute a casa. L'ideazione e l'attenzione sono buone; invece è frammentaria la memoria del periodo acuto della malattia; ricorda vagamente di essere stato in famiglia assai disordinato, di avere spesso cantato lungamente senza ragione, di aver sofferto vertigini e senso di mancamento; nega di aver tentato il suicidio e di aver tentato atti di violenza contro gli altri; umore un po' depresso; sentimenti morali in genere buoni.

Il paziente ha coscienza della sua personalità e della sua malattia; è orientato.

La cute è sottile con scarso pannicolo adiposo; quella del naso e di parte delle guance è rossa e con ricca desquamazione; quella delle mani è rossa lucida, tesa, dolente per la presenza di eritema pustoloso. Sensibilità normali; la dolorifica esagerata al dorso delle mani ed alla faccia; tutti i movimenti sono possibili; il riflesso patellare è esagerato, sono torpidi gli altri.

Durante la sua degenza nel manicomio ebbe dapprima un notevole miglioramento, mostrandosi sempre depresso ma meno confuso.

Il 12 maggio si manifestò diarrea abbondante e liquidissima, con temperatura febbrile di 39,5, seguita da forte ipotermia (34,5) che mise in pericolo la vita del paziente. Ma, in seguito a cura adeguata, tale pericolo fu scongiurato ed il malato tornò nelle condizioni di prima, avviandosi gradatamente alla guarigione, tanto che il 24 maggio si fece alzare da letto.

Nel mese di giugno, peraltro, il Chendi tornò nuovamente ad aggravarsi, mostrandosi fisicamente sconvolto, debole, assai confuso di mente.

Il 26 giugno a sera, mentre il paziente stava bevendo alla fonte, improvvisamente cadde riverso, con leggera cianosi al volto e con lingua ingrossata, aderente al palato.

La morte fu istantanea ed avvenne per paralisi cardiaca.

Reperto necroscopico. — Oltre alle solite lesioni dell'intestino (ecchimosi del duodeno e del tenue, atrofia della mucosa, contenuto diarroico con fiocchi di muco) e ad un leggero catarro bronchiale del lato destro, si trova abbondante emorragia subdurale in corrispondenza della regione occipito-parietale sinistra, della estensione di 6-7 cq.; parte del sangue era ancora fluida, ed alla sezione ne fluisce una buona quantità, presso a poco 50 cc.³ Tale emorragia fu indubbiamente la causa immediata della morte. Tutti gli altri visceri apparentemente normali.

Esame batteriologico. — Questo dimostrò germi in coltura pura nel sangue preso dal cadavere, del tutto eguali nella forma e nelle dimensioni a quelli dei casi appartenenti alla serie precedente; gli stessi germi, ma misti ad impurità banali, si riscontrarono nelle colture del cervello, del liquido cefalo-rachidiano, della milza, dei reni, del fegato.

Nelle successive colture ottenute dal sangue originale, come in quelle purificate avute dagli organi (fegato), tali germi apparivano, infatti, sotto forma di diplococchi simili a quelli del Fränkel, talora riuniti a piccoli gruppi od a corte catene, nelle quali qualche volta si vedeva la particolare disposizione trasversale degli elementi a forma di tenia.

Come negli altri casi studiati nella serie precedente, le colonie nascono bene in sangue di coniglio od in agar-sangue, ed in questi terreni di nutrizione mantengono a lungo la loro vitalità. Invece nei mezzi ordinari di nutrizione i trapianti nascono scarsamente e presto si esauriscono.

Le colture in questione si distinguono poi da quelle dei casi acutissimi, perchè gli innesti in agar da colture in sangue formano un velamento molle, lucido, bianco-grigiastro, abbastanza grosso, anzi che la solita coltura delicata, coll'aspetto di gocce di rugiada; perchè quelli in brodo, che prontamente acidifica, determinano un leggiero intorbidamento biancastro, uniforme, che ha poca tendenza a sedimentare; finalmente perchè nelle piatte in gelatina si osservano piccole colonie rotonde, giallo-brune, a contorno netto, fortemente granulose, ma senza nucleo nel loro interno.

Tanto le colture in sangue quanto quelle in blut-agar, sono bene sopportate dagli animali; solo quando s'iniettano in discreta quantità sotto la duramadre del coniglio qualche volta uccidono, ma assai lentamente e dopo aver determinato febbre ed i soliti fenomeni paralitici.

L'esame microscopico degli organi raccolti dal cadavere del Chendi riuscì negativo per la presenza di germi, cervello compreso.

OSSERVAZIONE 2^a. — Questa riguarda certa Parpaiola Maria, ricoverata nell'Ospedale civile di Padova per pellagra cronica, e morta in seguito a frenosi pellagrosa a forma subacuta. Di questa ammalata, della quale ci fu impossibile conoscere la storia clinica particolareggiata, potemmo avere per la gentilezza di un collega

qualche centimetro cubico di liquido cefalo-rachidiano raccolto dal cadavere, pezzi di cervello e d'intestino immersi in alcool assoluto.

Anche in questo caso si ebbe dal liquido cefalo-rachidiano un germe in coltura pura del tutto simile a quello del caso precedente, tanto per l'aspetto microscopico, quanto per le proprietà culturali; quindi con le stesse differenze notate coi casi acutissimi per riguardo alle colture in blut-agar, in brodo ed alle piatte in gelatina.

Anche per l'azione patogena si ebbero con questa coltura gli stessi risultati avuti con quelle del Chendi.

In questo caso, peraltro, potemmo confermare il reperto batteriologico con l'esame microscopico dei pezzi anatomici messi a nostra disposizione.

Infatti, all'esame del cervello, si osservano germi eguali a quelli notati con la coltura nello scarso essudato sotto-aracnoideo, nella piamadre e nella parte più superficiale della corteccia cerebrale (tav. I, fig. 10).

Tali germi, poi, sono assai più scarsi di quelli trovati nel 3° caso della 1ª serie, riscontrandosi solo la loro presenza in un numero limitato di sezioni, e quando nello spazio sotto-aracnoideo si hanno come dei fiocchetti formati da globuli rossi, da qualche globulo bianco e da un detrito granulare.

Pure in questo caso, come in quello più largamente studiato (Mazzini), il reperto microscopico del cervello trovò il suo riscontro in quello dell'intestino, nel quale si potevano vedere gli stessi microrganismi raccolti in grossi ammassi, tanto alla superficie della mucosa, quanto nell'interno delle glandule tubulari (Tav. IV, fig. 11). La differenza fra i due casi stava solo in questo, che qui le lesioni istologiche erano meno gravi; la infiltrazione dei germi nel tessuto si limitava esclusivamente alla mucosa dei villi, e mancava del tutto nel tessuto della sottomucosa.

3ª serie. Forme croniche. — In questa serie furono esaminati n. 9 ammalati, aspirando il sangue dalla vena della piegatura del braccio nella quantità di 5 cm.³ circa, e lasciandolo alcuni giorni nel termostato a 37° C. prima di fare trapianti nei substrati ordinari di nutrizione od in sangue di coniglio.

In alcuni casi, dopo separato il siero, questo veniva aspirato e sostituito con brodo ordinario o con sangue defibrinato di coniglio, per facilitare lo sviluppo dei germi che il materiale raccolto eventualmente potesse contenere.

Come soggetti di studio scegliestmo sempre ammalati che presentassero ben manifesti i fenomeni classici della malattia, i quali, fatta solo eccezione per il n. 3 (Sangion), duravano da molto tempo, con le solite oscillazioni di miglioramento e di recidiva ⁽¹⁾.

Insieme all'esame batteriologico, facevamo col sangue raccolto anche l'esame microscopico, distendendolo e disseccandolo sul portaoggetti appena estratto dalla vena e colorandolo più tardi col metodo di May-Grünwald ⁽²⁾; in qualche caso si è tenuto conto pure del numero dei globuli rossi ed è stato ricercato il potere emolitico del siero.

Nel quadro seguente sono riportati tutti i dati che si sono potuti raccogliere relativi a ciascun ammalato, ed i risultati ottenuti, tanto con l'esame microscopico del sangue, quanto con la sua coltura.

⁽¹⁾ Per tali osservazioni siamo grati al dott. Caldana, direttore sanitario del Pellagrosario di Mogliano-Veneto, che ci piace di ringraziare pubblicamente.

⁽²⁾ May-Grünwald, *Deut. Archiv. f. Klin. Medicin*, Bd. LXXIX, 1904.

N. d'ordine	NOME DEL PAZIENTE	Residenza	Durata della malattia	Diagnosi clinica	Giorno della presa di sangue	RISULTATO DELL'ESAME MICROSCOPICO	RISULTATI CULTURALI	
							Colt. naturale	Colt. in sangue
1	GIACOMETTI Maddalena. . . anni 41	Ospedale civ. di Cittadella	da parecchi anni	Pellagra cronica riacutizzata	7 marzo 1905	negativo	negativo	negativo
2	MANZI Barbara anni 57	Manicomio prov. Ferrara	da circa 5 anni	"	9 aprile 1905	"	"	"
3	SANGIOM Antonio anni 14	Pellagrosario Mogliano ven.	da qualche mese	Pellagra subacuta	20 marzo 1904	"	"	"
4	DELLA ROVERE Domenico anni 51	"	da parecchi anni	Pellagra cronica riacutizzata	"	positivo	"	"
5	CECCATO anni 52	"	da molti anni	"	16 dicembre 1904	"	"	"
6	COSTANTINI Antonio . . . anni 59	"	"	"	"	negativo	"	"
7	DELLE VEDOVE Antonia . anni 40	"	da parecchi anni	"	2 giugno 1904	"	"	"
8	CASTELLANI Francesco . . anni 60	Manicomio prov. Ferrara	da oltre due anni	Psicosi pellagrosa	26 aprile 1905	"	"	"
9	VENZO Eugenio anni 42	Ospedale civ. Bassano ven.	da parecchi anni	Enterite pellagrosa, psicosi pell.	30 settembr. 1904	"	"	"

Dunque, in tutti gli ammalati di forme ordinarie di pellagra, la coltura del sangue raccolto dall'ammalato dette costantemente risultato negativo.

Nè più fortunati fummo con lo studio del sangue e degli organi di uno di questi ammalati, venuto a morte nell'ospedale di Bassano Veneto il 28 ottobre 1904, in seguito a profusissima diarrea sanguinolenta ed a profondo deperimento generale, perchè tutte le colture fatte (sangue, liquido-rachidiano, trasudato pleurico, cervello, fegato, milza, rene) rapidamente furono invase dal *b. coli*.

Quindi tale osservazione valse solo a rafforzarci nel concetto, che i casi di pellagra cronica i quali soccombono per profusa diarrea accompagnata a rapida e profonda denutrizione, poco si prestano per uno studio batteriologico, perchè, in causa delle gravi lesioni intestinali e della grande depressione dei fenomeni vitali, facilmente si determina, anche prima della morte, una invasione del *coli* in tutto l'organismo.

Riguardo agli altri esami fatti sullo stesso sangue raccolto dagli ammalati, dobbiamo dire che tali ricerche, oltre a confermare la considerevole diminuzione del numero dei globuli rossi e la esistenza nel siero di un discreto potere emolitico (in un caso dava emolisi quasi completa fino alla proporzione di 1 : 40), potemmo talora mettere in luce alcuni fatti sui quali è bene richiamare l'attenzione, anche per le considerazioni a cui possono dar luogo.

Così, all'esame microscopico del sangue, alcune volte, come nel caso n. 4 (Della Rovere), ci accadde di vedere entro i globuli bianchi 3-5 coppie di bacilli a fiamma di candela, a contorno ben netto, distintamente colorati e contornati da un alone chiaro a guisa di capsula (tav. IV, fig. 12).

Ma v'è di più; nei due casi nn. 4 e 5 (Della Rovere e Ceccato) ci fu dato osservare nel sangue raccolto dalla vena del braccio, dopo una permanenza di 2-3 giorni alla stufa, qualche germe libero; e questo, tanto nel coagulo, quanto nel siero, specie nel sedimento che in questo si forma dopo essere stato separato.

Tali germi il più spesso apparivano coll'aspetto di coppie lanceolate, ma se ne osservavano anche dei rotondi e perfino a forma decisamente bacillare; due volte si videro anche corte catene di 4-6 elementi appena.

Questi microrganismi, poi, erano sempre molto scarsi; ordinariamente bisognava scorrere vari preparati per poterne vedere qualcuno, anche perchè, invece di essere disseminati, di solito erano riuniti a piccoli gruppi.

In un periodo ulteriore della coltura gli stessi germi, anzichè aumentare, andavano diminuendo di numero fino a scomparire del tutto.

Anche in questi casi, nei quali dapprima avevamo nutrita qualche speranza, i successivi trapianti fatti in brodo, in agar od in sangue di coniglio, riuscirono del tutto sterili.

Intorno al significato dei germi in questione, noi pensiamo che essi si fossero resi liberi per il disfacimento dei globuli bianchi nei quali dapprima erano contenuti, ma che la loro moltiplicazione e la loro coltura in nuovi substrati di nutrizione non fosse affatto possibile, sia perchè già morti entro i globuli bianchi stessi, sia perchè uccisi per influenza del siero, appena messi in libertà, in seguito al disfacimento dei leucociti.

Conclusioni. Considerazioni.

Le nostre osservazioni dimostrano, anzitutto, che nelle forme gravi, rapidamente mortali di pellagra, si trova indubbiamente un germe speciale che abbiamo studiato nei suoi caratteri morfologici, colturali e nelle sue proprietà patogene.

La malattia può essere intesa così come una vera e propria infezione specifica.

Che esista, poi, un rapporto diretto fra il germe isolato e la forma morbosa indicata, questo ci è provato dal fatto che lo stesso microrganismo fu riscontrato in tre casi tipici di malattia (tifo, pellagroso, frenosi pellagrosa) senza complicazione alcuna; che gli stessi risultati furono ottenuti a grandissima distanza di tempo ed in località molto lontane fra loro (Reggio-Emilia, Imola, Ferrara).

Con ciò può quindi escludersi che le cose da noi osservate debbano ascriversi a complicazioni della malattia e che possano essere sospettate come pure e semplici accidentalità.

Questo germe in due casi si poté coltivare, allo stato di purezza, dal sangue raccolto dal malato o preso dal cadavere e dal liquido cefalo-rachidiano; in un caso, dove fu possibile uno studio più largo e più completo, se ne poté dimostrare la diffusione a tutti gli organi, cervello, milza, fegato, rene, pancreas. L'esame microscopico confermò la presenza degli stessi microrganismi nel sistema nervoso centrale, specialmente nella piamadre, negli spazi sotto-aracnoidei ed alla superficie dei ventricoli; inoltre dimostrò anche nell'intestino la presenza d'identiche forme batteriche, raccolte principalmente nel fondo delle glandole tubulari, aggruppate attorno agli epiteli glandulari e di rivestimento, ed infiltrate pure nella mucosa e nel tessuto sottomucoso.

Il concetto della specificità di questo germe è comprovato, non solo dalle sue particolarità, dalla corrispondenza perfetta nei vari casi delle sue caratteristiche morfologiche e colturali, ma ancora, e molto più validamente, dalla azione patogena che esso è capace di dispiegare negli animali da laboratorio.

Infatti, nella cavia si poté riprodurre una intossicazione cronica molto simile a quella della pellagra, e nel coniglio, con la iniezione subdurale delle stesse colture, si riuscì ad ottenere un quadro morboso gravissimo, del tutto paragonabile a quello del tifo pellagroso e della follia pellagrosa, a decorso acutissimo e rapidamente mortale.

Sempre, poi, fu evidente l'azione elettiva che esercitano i prodotti della coltura sul sistema nervoso centrale.

Del resto è facile a comprendere come l'esistenza di questo microrganismo possa essere andata finora sconosciuta, quando si pensa che esso si ritrova con tutte le sue proprietà caratteristiche solo nelle forme di pellagra che sono eccezionalmente favorevoli per questa ricerca, e quando si tenga il voluto conto del fatto che il germe in questione non nasce sugli ordinari mezzi di nutrizione e che perde rapidamente fuori del corpo la sua azione patogena.

Anche nelle forme di pellagra più lente (frenosi pellagrosa), ma egualmente mortali, noi abbiamo isolato dal sangue, dal liquido cefalo-rachidiano e dagli organi

un microrganismo, che per i caratteri morfologici e per alcune proprietà colturali, si può dire identico a quello delle osservazioni precedenti; microrganismo che pure interessa di preferenza gli spazi sotto-aracnoidei, la piamadre e la parte più superficiale della corteccia cerebrale, come si è potuto dimostrare in un caso colla indagine microscopica.

È vero che i due germi, delle forme acutissime e di quelle subacute, si differenziano nettamente per alcuni caratteri batteriologici, soprattutto per l'aspetto delle colture in agar e delle colonie in gelatina; ma chi conosce le variazioni che alcuni germi subiscono nelle loro proprietà colturali in seguito alla sofferta attenuazione, come avviene ad es. per lo pneumococco del Fränkel, non stenterà a dare a questi fatti il loro giusto valore ed a riconoscere con noi l'identità di questi germi che nelle forme più lente sarebbero, peraltro, considerevolmente attenuati.

Ed una prova di questa attenuazione l'avemmo nella mancanza di una spiccata azione patogena delle colture ottenute dalle forme più lente, anche quando furono iniettate direttamente sotto la dura madre, cioè in contatto diretto di quella parte che più facilmente ne risente l'azione.

Assai più difficile, dal lato etiologico, riesce stabilire i rapporti di queste due forme di pellagra, più o meno rapidamente mortali, con quelle ordinarie che decorrono in modo cronico e che, come si sa, vanno soggette a frequenti e quasi periodiche riacutizzazioni; rapporto che implica la questione gravissima ed interessantissima se cioè i germi da noi coltivati siano proprî di alcune forme solamente, o rappresentino effettivamente la ragione di essere della pellagra in generale.

Logicamente e per dati di analogia si dovrebbe ammettere che le forme più lente di malattia siano determinate dalla stessa causa che origina le forme acute, più o meno rapidamente mortali, con la differenza che nel primo caso, in seguito alla attenuazione del germe o a particolare resistenza dell'organismo che ne impedisce la diffusione dalla primitiva localizzazione, si hanno effetti molto meno gravi ed assai meno rapidi.

Ma, per quanta cura abbiamo posto nello studio del sangue preso dalle vene del braccio di ammalati che presentavano bene spiccati i caratteristici fenomeni della pellagra (diarrea, eritema al dorso delle mani ed alla faccia, denutrizione, ottundimento della intelligenza), mai abbiamo potuto ottenere colture simili a quelle isolate dal malato e dal cadavere delle due serie precedenti.

È ben vero che in un caso siamo riusciti a vedere germi eguali a quelli ricordati, entro un globulo bianco, mentre la coltura del rispettivo sangue rimaneva del tutto sterile; è ben vero che in due osservazioni la coltura del sangue raccolto dalla vena, con o senza aggiunta di brodo, ci ha mostrato molto fugacemente dei rarissimi germi liberi in forma di cocci, di diplococchi e di bacilli, del tutto simili a quelli osservati nei casi rapidamente mortali; germi che sparivano di poi nei successivi esami e non ricomparivano più, per quanto il materiale da studio fosse tenuto lungamente nel termostato e nelle migliori condizioni. Ma questo, se non basta ancora a risolvere sicuramente un problema così importante come quello che ci siamo proposti, è per lo meno sufficiente ad ingenerare il sospetto che gli stessi germi, dimostrati indubbiamente nelle forme acute di pellagra, possano riscontrarsi anche nelle

forme più lente, che decorrono col quadro clinico ordinario, con la differenza che in questi casi vi sono condizioni particolari del sangue (fagociti, siero) che si appongono alla loro diffusione dall'intestino nell'organismo e rendono più difficile la dimostrazione della loro presenza.

Così, in questi casi, i pochi germi che passano dall'intestino nel sangue, sarebbero presi rapidamente dai globuli bianchi, ed appena resi liberi per disfacimento di questi, sarebbero rapidamente uccisi e distrutti dal siero, quando la loro vitalità non si fosse già spenta per opera della fagocitosi.

Quindi, anche se in qualche favorevole occasione se ne può accertare la presenza, questa, per le ragioni dette, non può esser messa fuori di ogni contestazione con la coltura, tanto del sangue stesso preso dall'ammalato, quanto dei successivi trapianti fatti in adatti substrati di nutrizione (sangue di coniglio).

Questo concetto, poi, viene ad essere pienamente appoggiato da una osservazione che noi abbiamo potuto fare, cioè, che l'innesto della ricca coltura in sangue avuta da un caso di frenosi pellagrosa (Mazzini), fatto nel sangue di un malato di pellagra cronica previamente dimostrato sterile, ha completamente fallito, mentre riuscì positivo quello fatto sopra sangue di uomo sano e sopra sangue di coniglio.

Per cui sembrerebbe che nel sangue dei pellagrosi cronici si verificassero quelle condizioni che si verificano in altre infezioni dell'uomo (tifo, polmonite), nelle quali, per speciali resistenze che i germi incontrano nel siero, non è possibile ottenerne una coltura, se tali resistenze non sono tolte od almeno molto diminuite con una conveniente diluizione del sangue stesso negli ordinari substrati nutritivi.

E nella pellagra, data la lunghezza della malattia, data la lentezza della intossicazione, tali condizioni di resistenza del sangue devono essere anche più facili a stabilirsi, devono raggiungere un grado molto più elevato, in modo da rendere difficile di allontanarle e di ridurle al limite voluto con la diluizione fatta anche con materiali convenienti.

Secondo questo concetto, quindi, i casi di pellagra acutissimi si distinguerebbero da quelli cronici per questo, che nei primi si avrebbero condizioni del sangue, tanto iniziali, quanto sopraggiunte secondariamente, che si presterebbero alla moltiplicazione del germe specifico nel sangue ed al suo trasporto nel sistema nervoso centrale, dove troverebbe condizioni di sviluppo anche più adatte; mentre nei secondi la infezione rimarrebbe localizzata all'intestino e i pochi germi che passano nel sangue verrebbero rapidamente distrutti dalle valide resistenze opposte da questo (gl. bianchi, siero).

Così, nella forma acutissima, la presenza nei germi del sangue ed il loro passaggio nel liquido cefalo-rachidiano determinerebbe una intossicazione diretta, gravissima, del sistema nervoso centrale, che spiegherebbe i gravi fenomeni clinici che l'accompagnano e la rapidità della morte; invece nelle forme croniche passerebbe nel sangue solo il veleno che si produce nella coltura dell'intestino, il quale veleno, perciò, arriverebbe agli stessi centri nervosi dopo una fortissima diluizione subita nell'organismo, e dopo aver soggiaciuto moltro probabilmente a profondi processi di scomposizione.

Si verificherebbe in altre parole la stessa differenza che si osserva fra le forme

fulminanti del colera, nelle quali, in seguito ad osservazioni di uno di noi ⁽¹⁾, fu dimostrata l'intossicazione diretta del sistema nervoso per la presenza nel sangue e nel liquido cefalo-rachidiano del vibrione del colera, e le forme più lente, in cui, come è noto, si verifica solamente una intossicazione indiretta degli stessi centri nervosi per opera di focolai infettivi, che rimangono esclusivamente localizzati all'intestino.

Con ulteriori ricerche rimane da determinare, se nel contenuto intestinale dei pellagrosi, scegliendo specialmente forme recenti in preda a grave riacutizzazione, si trovino gli stessi germi che noi abbiamo insegnato a cercare con lo studio delle forme acutissime; se e dove gli stessi germi si ritrovino fuori dell'organismo; finalmente se il mais può essere imputato nella patogenesi e nella diffusione della malattia, in quanto i germi specifici contenuti nelle materie diarroiche dei pellagrosi, che indifferentemente sono usati nella concimazione dei terreni, trovino facile attecchimento nel mais avariato.

E tutti questi problemi affidiamo all'esame dei colleghi che si trovano in condizioni più favorevoli delle nostre per questi studi.

Noi saremo ben lieti se avremo potuto insegnare la via ed offrire l'occasione per risolvere una questione di sì alto interesse per il nostro paese e per l'umanità.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

TAVOLA I.

FIG. 1. Osservazione 3.^a Serie 1^a (Mazzini). — Coltura in Blut-agar non glicerinato, 24^h. Obb. imm.

omog. $\frac{1}{18}$ Zeiss. Oc. IV, lunghezza del tubo 200 $\frac{m}{m}$. Colorazione fucsina, Weigert-Gram.

FIG. 2. Id. Coltura in Blut-agar non glicerinato, 24^h. Ingr., colorazione come fig. 1.

FIG. 3. Id. Coltura in Blut-agar non glicerinato, 24^h. Ingr. e colorazione come fig. 1.

FIG. 4. Id. Coltura in Blut-agar non glicerinato, 24^h. Ingr. e colorazione come fig. 1.

FIG. 5. Id. Coltura in Blut-agar glicerinato, 18^h. Ingr. e colorazione come fig. 1.

FIG. 6. Id. Coltura in Blut-agar glicerinato, 18^h. Ingr. e colorazione come fig. 1.

FIG. 7. Id. Coltura in brodo umano da sangue, 24^h. Ingr. e colorazione come fig. 1.

FIG. 8. Id. Coltura in brodo umano da sangue, 24^h. Ingr. e colorazione come fig. 1.

FIG. 9. Id. Coltura in brodo comune e sangue di coniglio, da coltura originale in sangue, 48^h.

Ingr. e colorazione come fig. 1.

TAVOLA II.

FIG. 1. Osservazione 3.^a Serie 1^a (Mazzini). Coltura piatta in agar, 24^h, da sangue originale preso dal vivo; illuminazione obliqua. Zeiss. Obb. A. Ocul. IV.

FIG. 2. Id. Coltura piatta in gelatina a 20° C. dopo 2 giorni; da Blut-agar glicerinato da originale del rene. Ingr. come fig. 1.

⁽¹⁾ Tizzoni e Cattani, Recherches sur le choléra asiatique. Ziegler's Beiträge. Bd. III, pag. 191.

- FIG. 3. Id. Coltura piatta in gelatina a 20° C. dopo 4 giorni; da Blut-agar glicerinato da originale del rene. Ingr. come fig. 1.
- FIG. 4. Id. Coltura piatta in agar di 24^h; da coltura in sangue preso dal vivo; illuminazione diretta. Ingr. come fig. 1.
- FIG. 5. Id. Blut-agar 24^h, I^a gen. da originale avuta dalla regione occipitale del cervello. Ingr. naturale.
- FIG. 6. Id. Blut-agar 24^h, I^a gen. da originale della milza. Ingr. naturale.
- FIG. 7. Id. Coltura in gelatina di 13 gni, alla temp. di 25° C.; da 5^a gen. in sangue, originale sangue preso dal vivo. Ingr. naturale.
- FIG. 8. Id. Cultura in gelatina di 13 gni, alla temperatura di 25° C.; da Blut-agar proveniente direttamente da sangue preso dal vivo. Ingr. naturale.

TAVOLA III.

- FIG. 1. Osservazione 3^a. Serie 1^a (Mazzini). Sezione trasversale midollo spinale, regione cerviale. Fissaz. alcool assol. Colorazione litio-carminio, Weigert-Gram. Ingr. = 500. D.
- FIG. 2. Id. Cervello, meningi tenui. Tecnica come il precedente Ingr. Immers. omog. = 850. D.
- FIG. 3. Id. Cervello, vasi della pia nei ventricoli laterali. Tecnica come fig. 1. Ingr. = 500. D.
- FIG. 4. Id. Cervello in corrispondenza dei talami attivi. Tecnica come fig. 1. Ingr. = 600. D.
- FIG. 5. Id. Intestino tenue. Tecnica come fig. 1. Ingr. Immers. omog. = 800. D.
- FIG. 6, 7, 8. Id., id. id. id. Varii punti della mucosa intestinale. Ingr. Immers. omog. = 800. D.
- FIG. 9. Id. Milza. Tecnica come fig. 1. Ingr. = 500. D.

TAVOLA IV.

- FIG. 10. Osservazione 2^a. Serie 2^a (Parpaiola Maria). Cervello. Fissaz. alcool. assol. Colorazione litio-carminio, Weigert-Gram. Ingr. = 500. D.
- FIG. 11. Id. Intestino tenue. Tecnica come il precedente. Ingr. = 500. D.
- FIG. 12. Osservazione 4^a. Ser. 3^a (Della Rovere). Sangue preso dalla vena. Colorazione May-Grünwald. Ingr. = 1000. D. Immers. omog.
- FIG. 13. Coniglio, iniezione subdurale coltura sangue osservaz. 3^a Serie 1^a (Mazzini). Cervello, focolaio necrotico corrispondente alla parte inoculata. Colorazione litio-carminio, Weigert-Gram. Ingr. = 100. D.
- FIG. 14. Id., id., id., Dettaglio precedente preparato. Ingr. = 500. D.
- FIG. 4. Id., id., id., Essudato sulla parete del ventricolo laterale. Tecnica come fig. 13. Ingr. = 800. D. Immers. omog.
- FIG. 15. Id., id., id. Superficie del cervello, regione parietale corrispondente alla parte inoculata; essudato nelle meningi tenui. Tecnica come fig. 13. Ingr. = 800. D. Immers. omog.

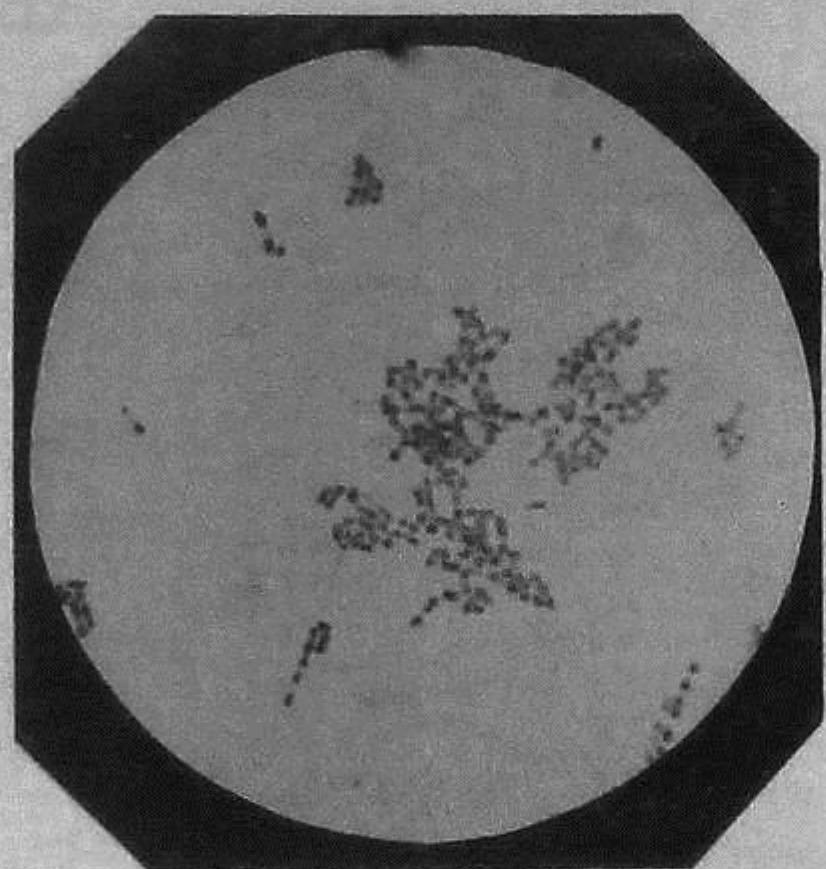


Fig. 1

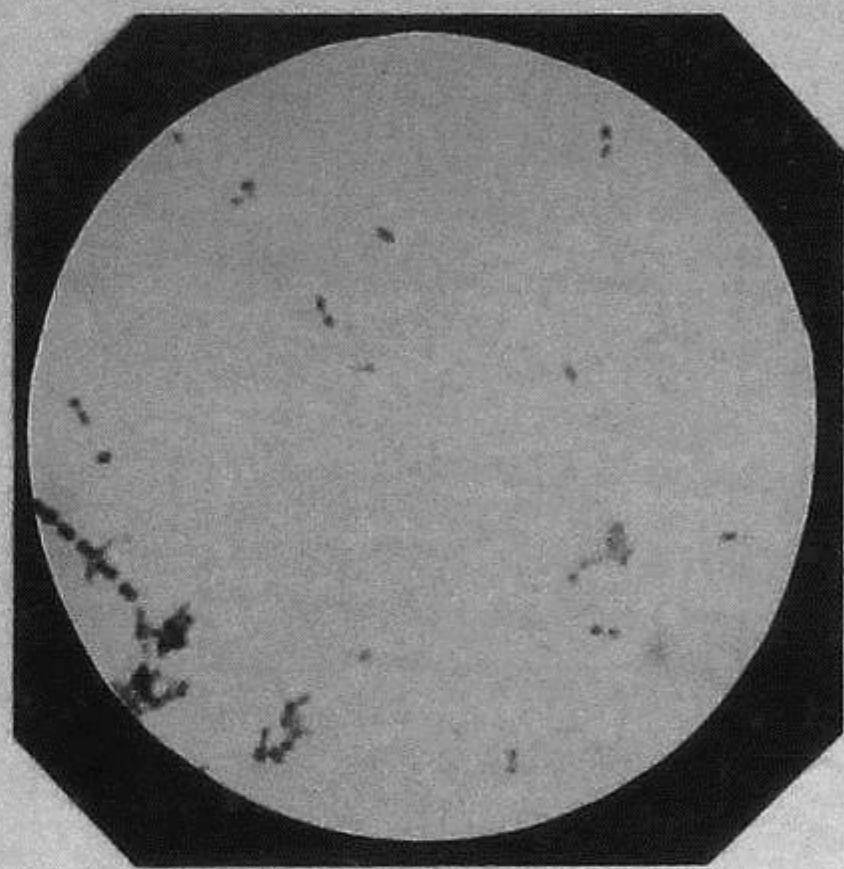


Fig. 2

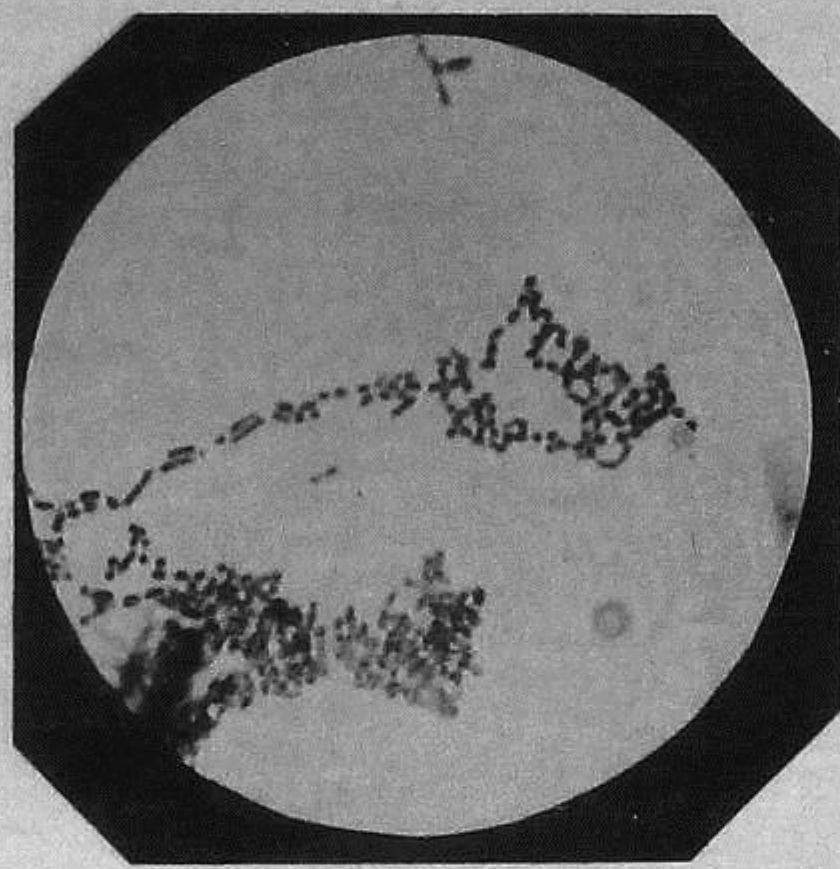


Fig. 3

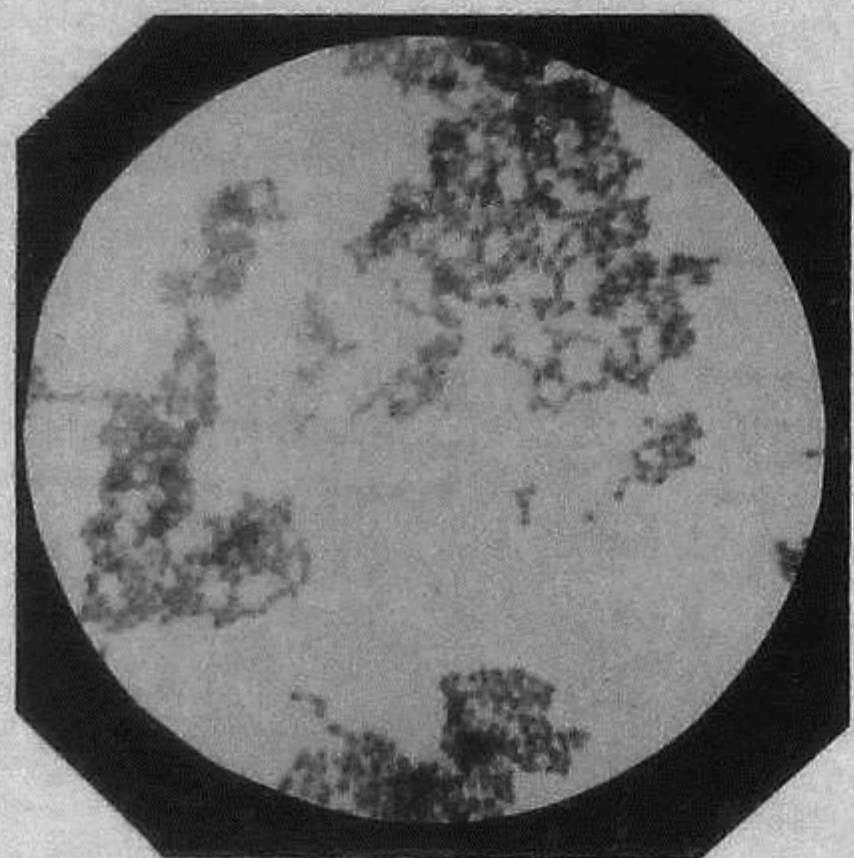


Fig. 4

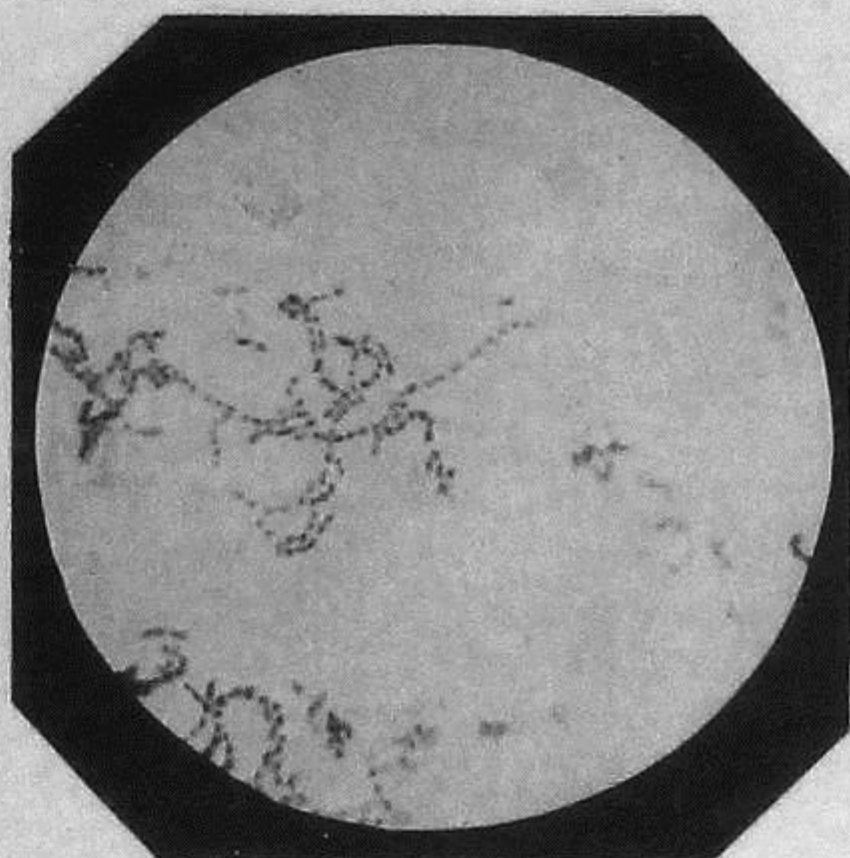


Fig. 5

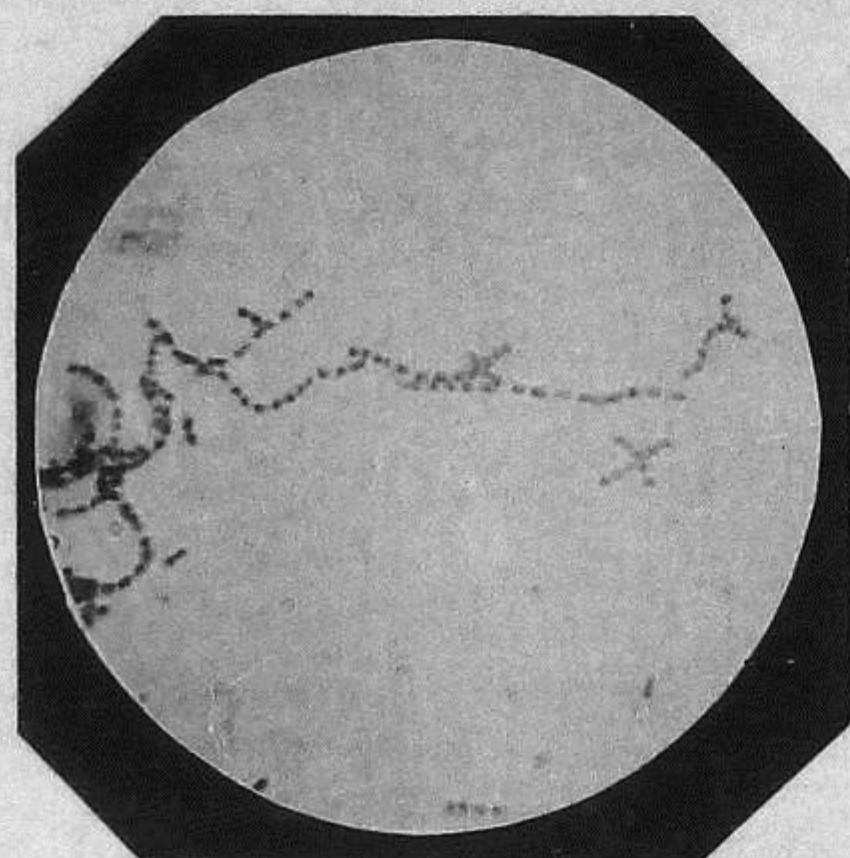


Fig. 6

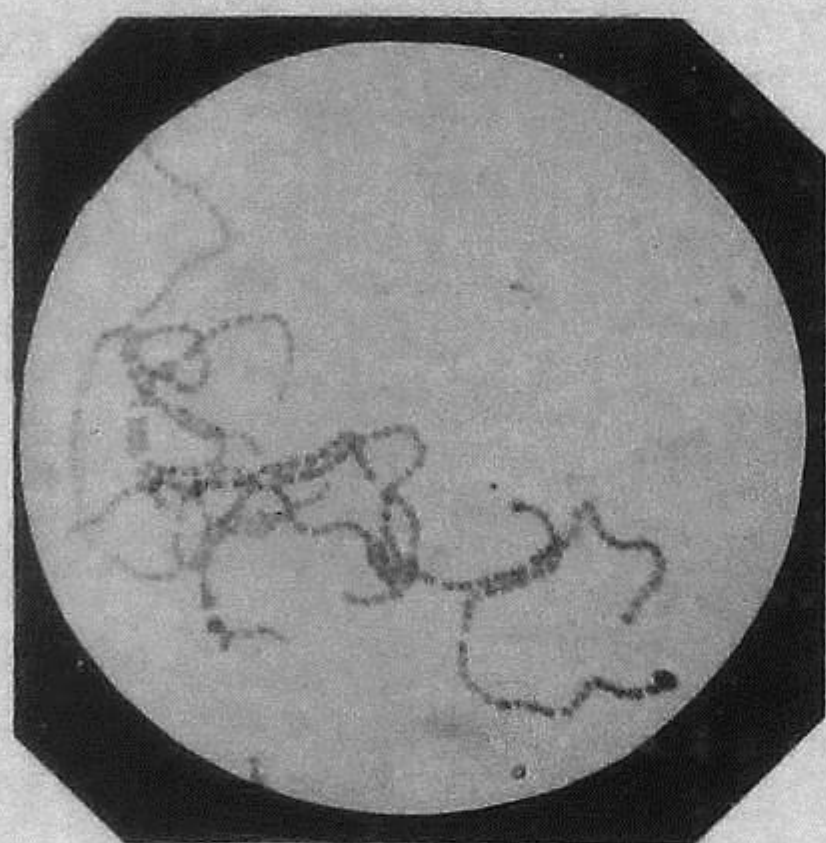


Fig. 7

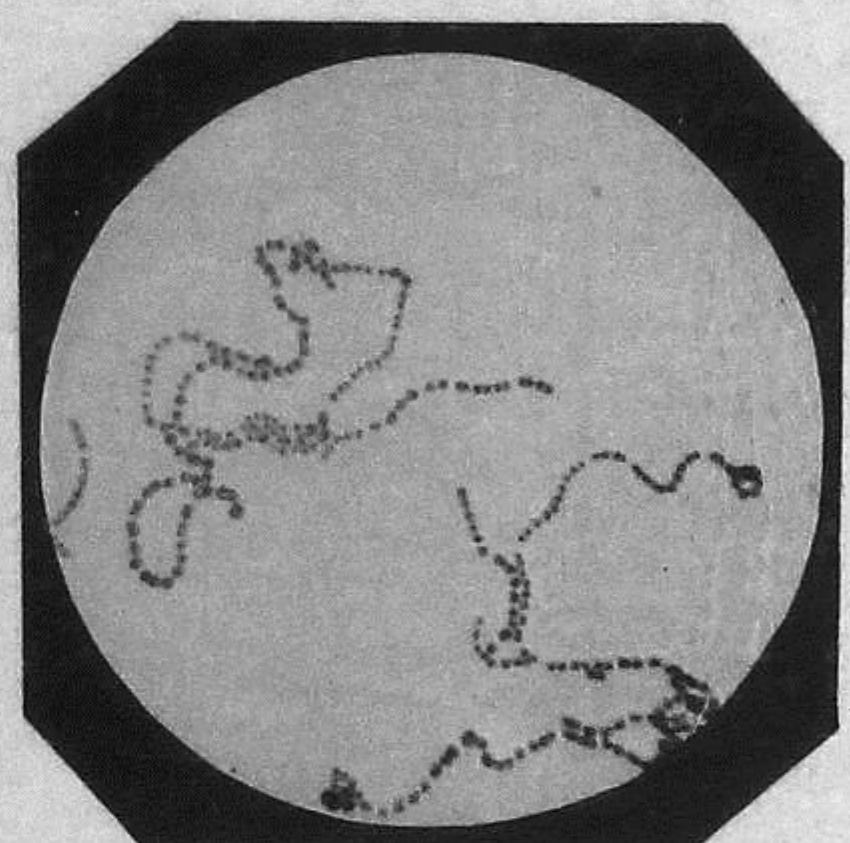


Fig. 8

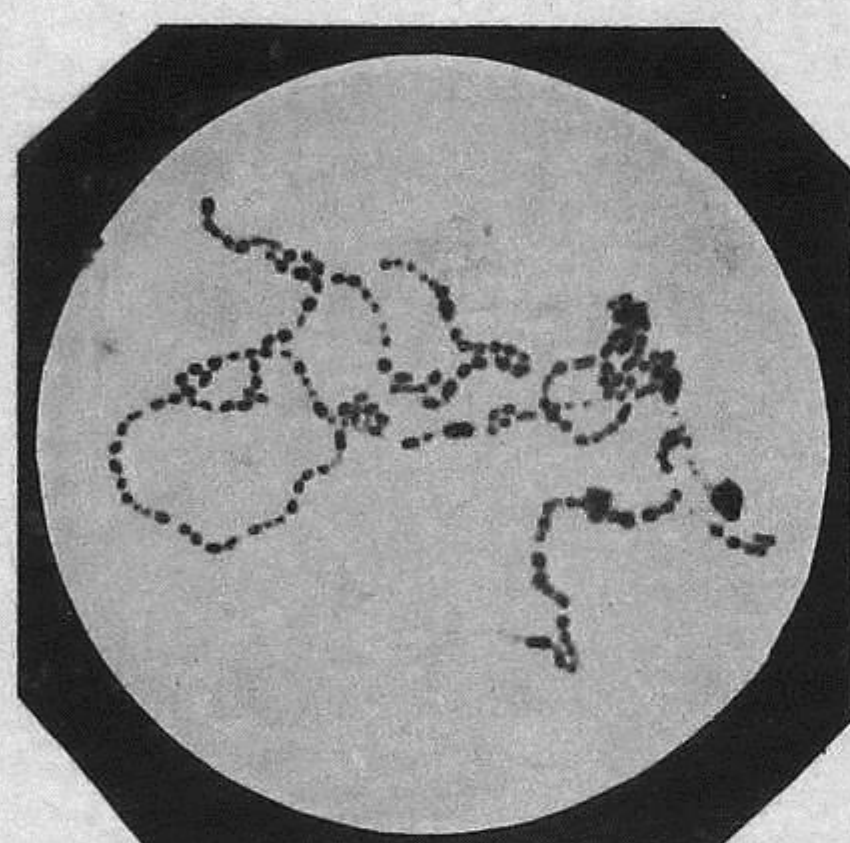


Fig. 9

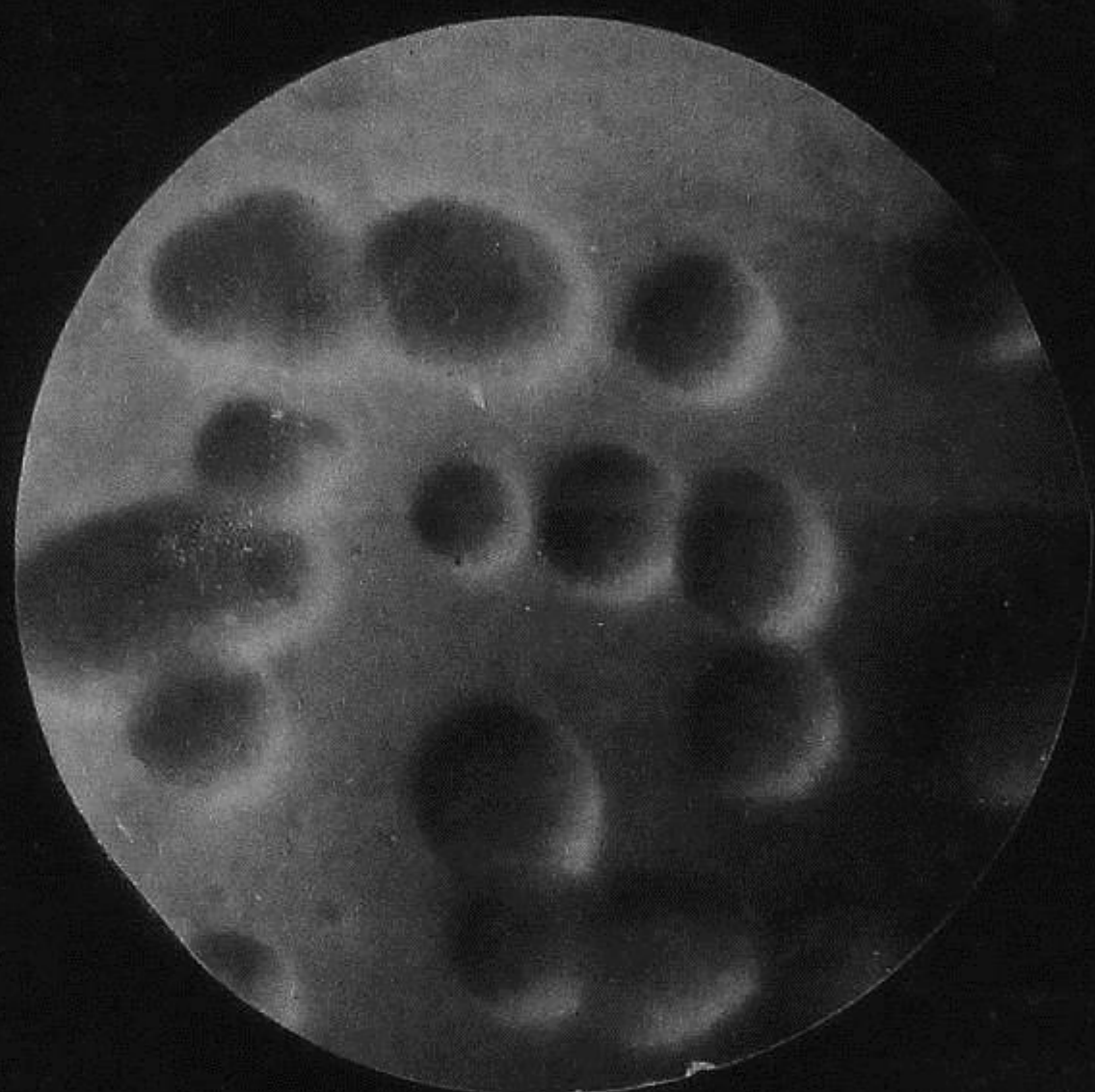


Fig. 1

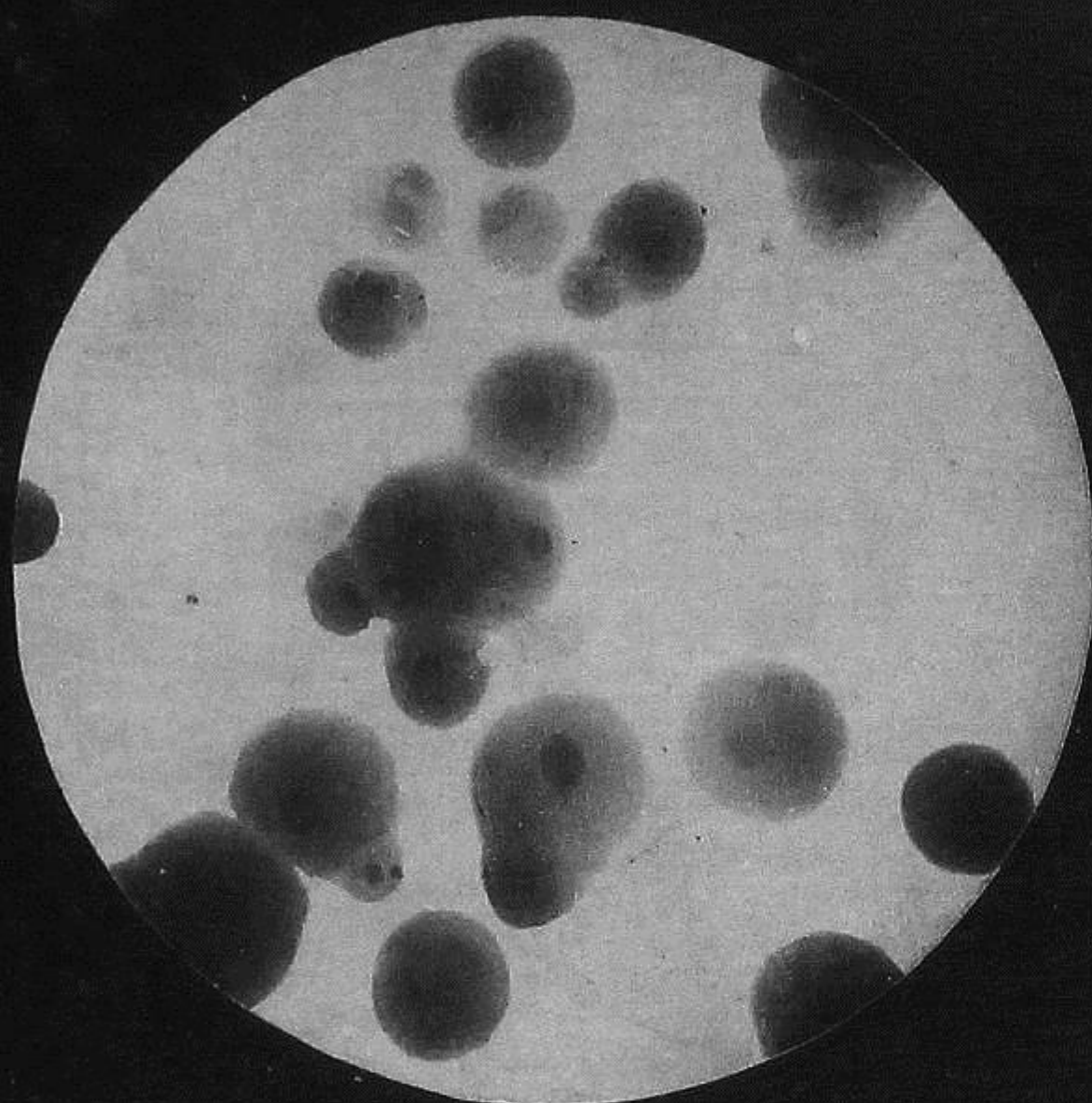


Fig. 2

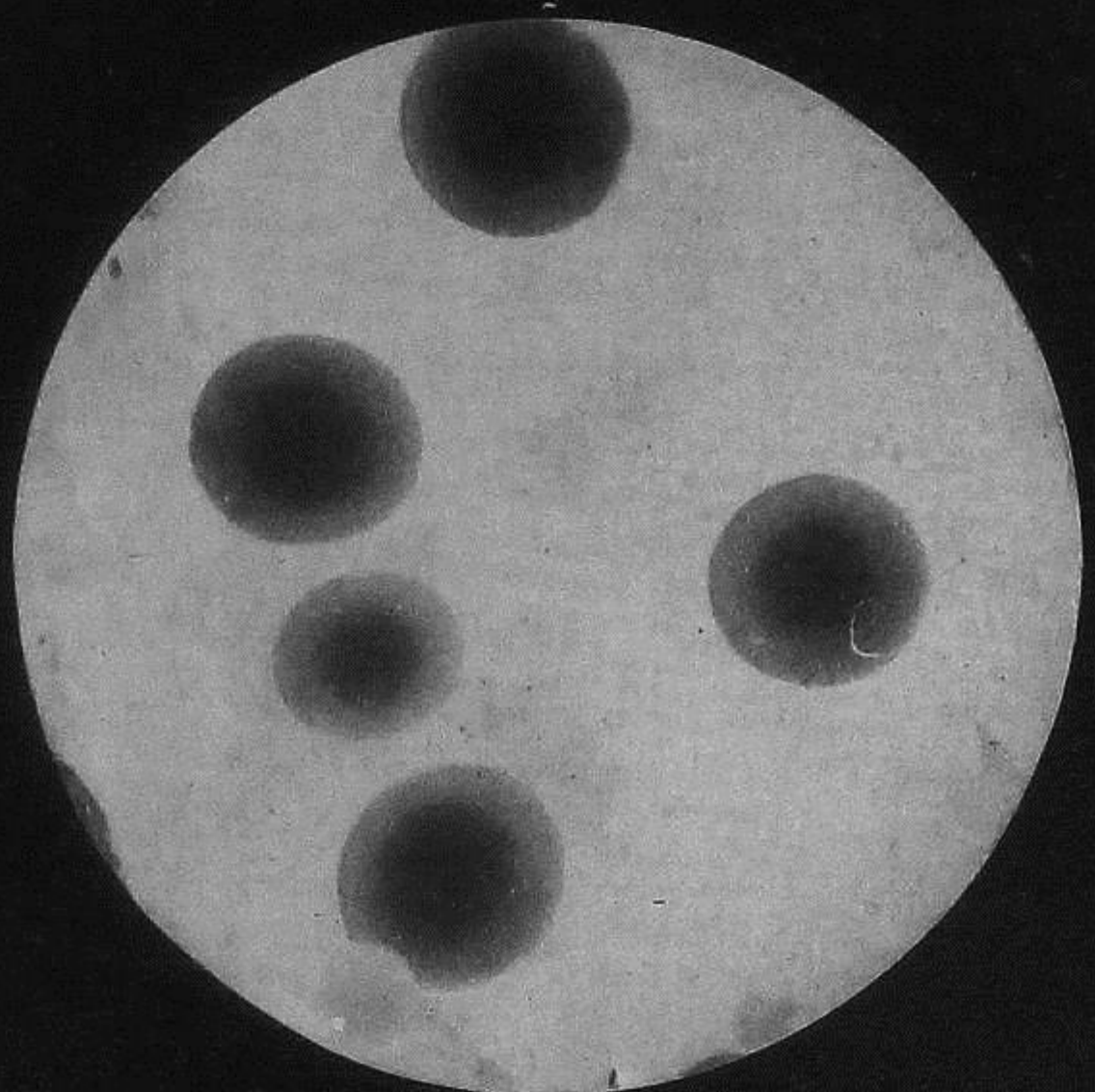


Fig. 3

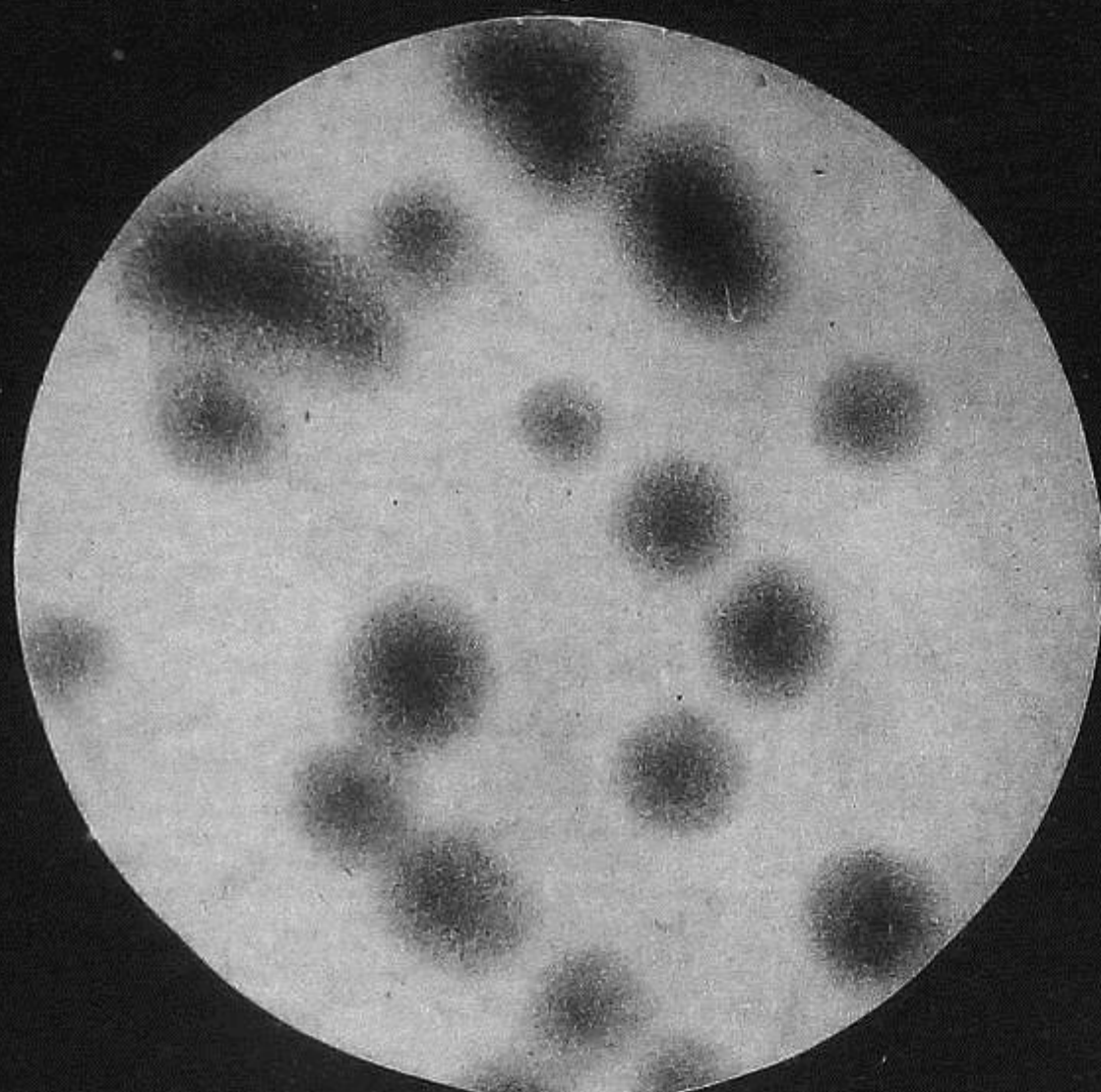


Fig. 4

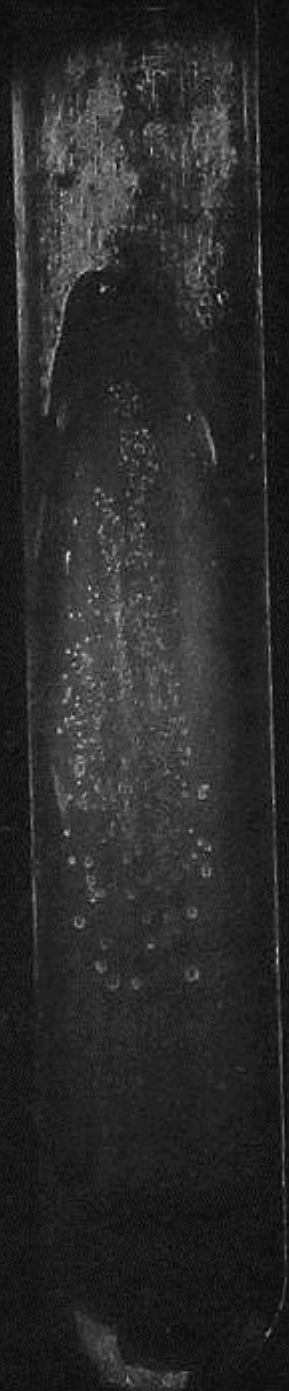


Fig. 5

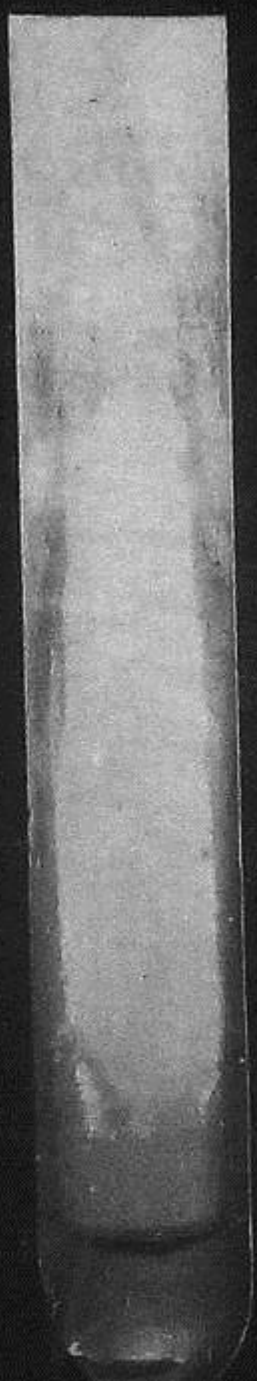


Fig. 6



Fig. 7



Fig. 8

Fig 1.

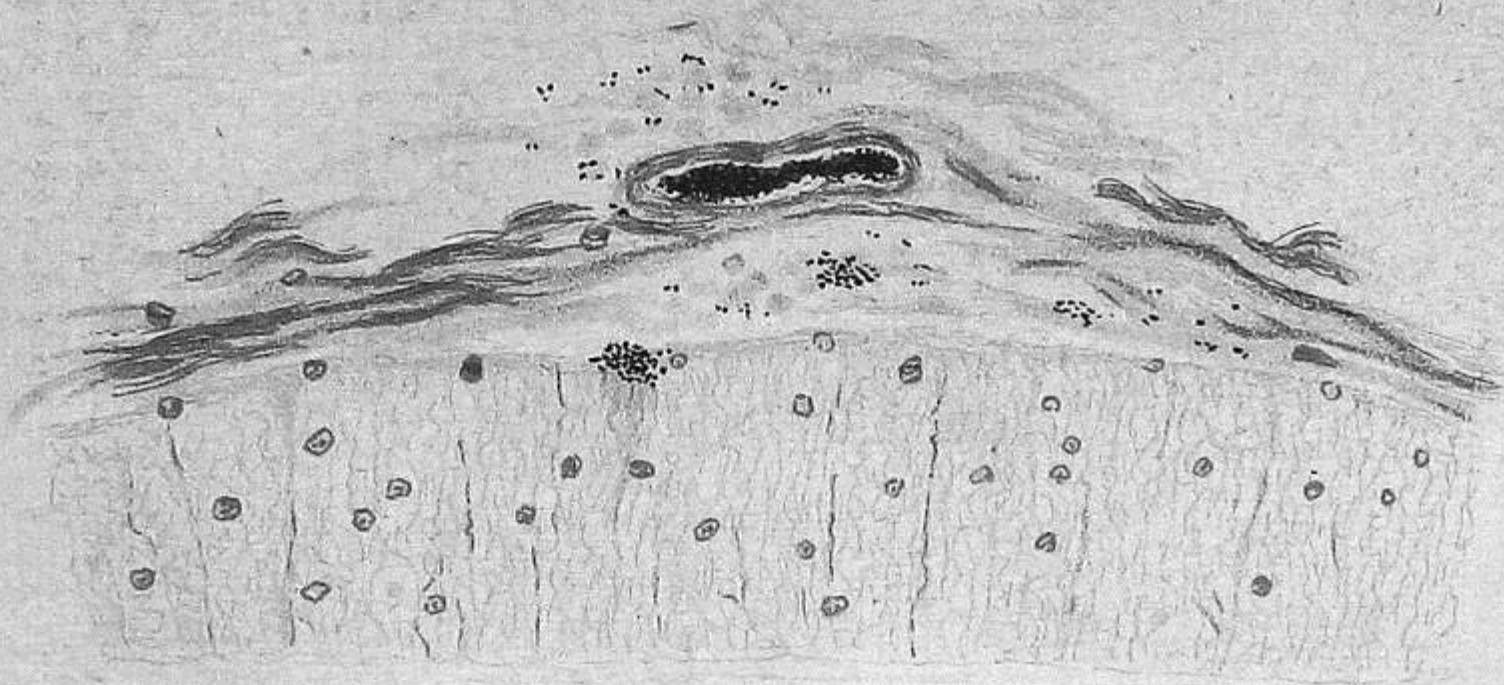


Fig 2.



Fig. 3.

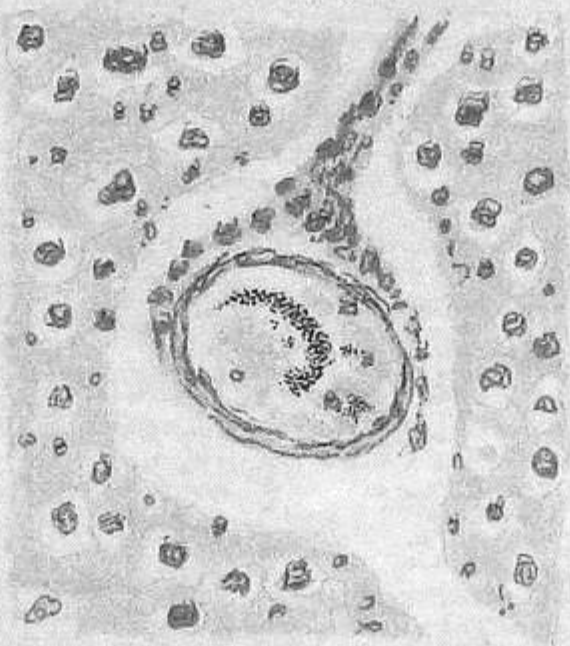


Fig. 4.



Fig. 5.

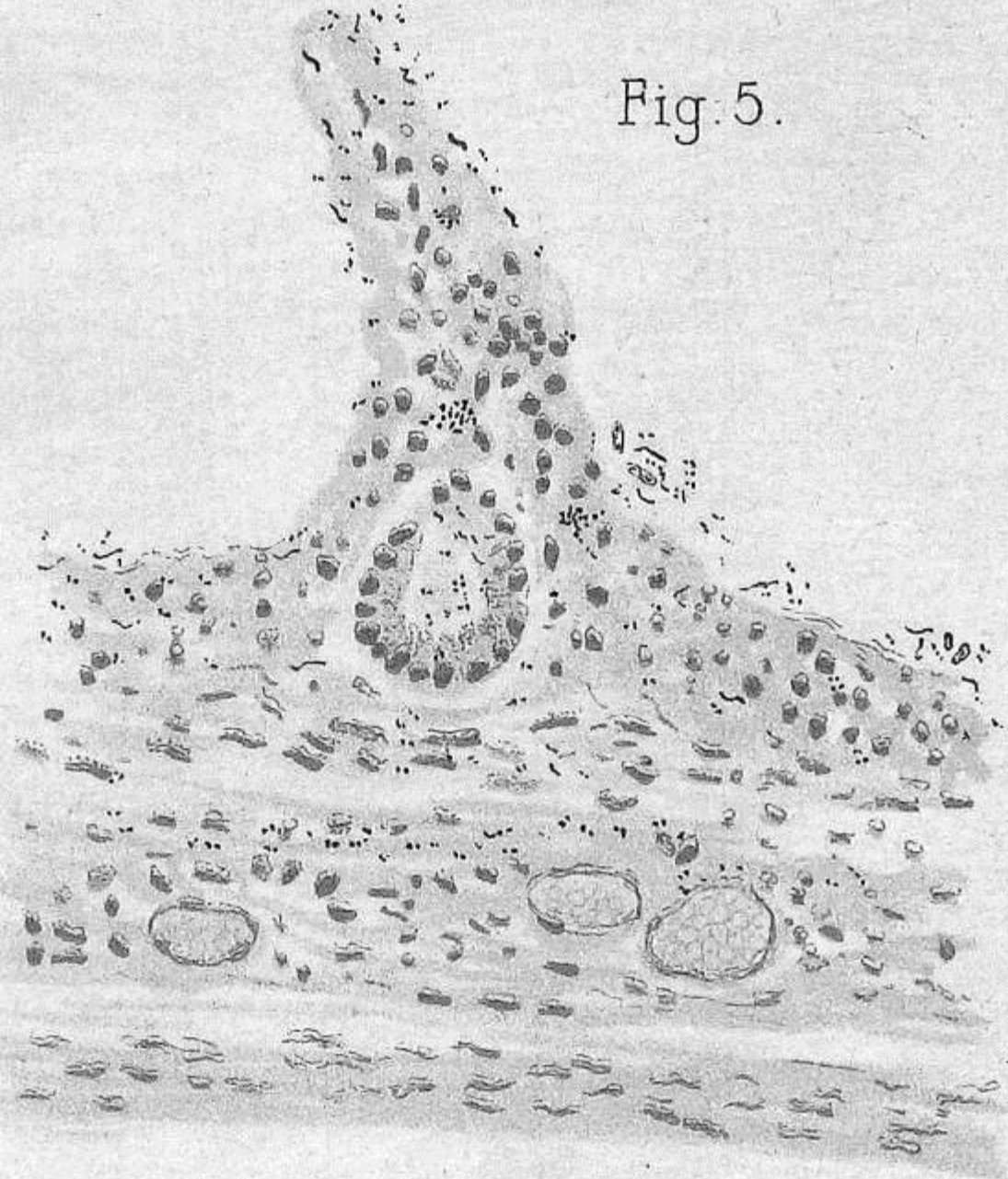


Fig. 6.

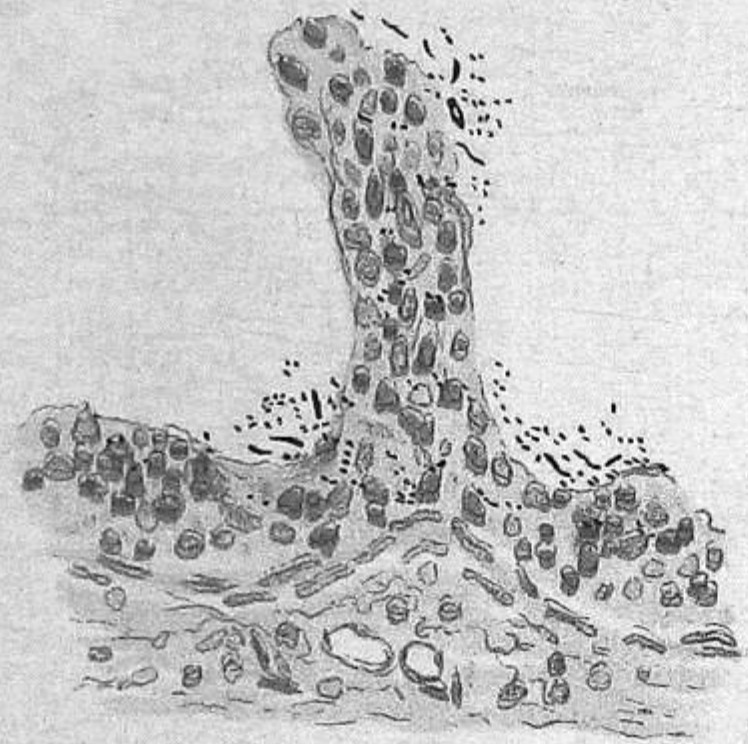


Fig. 7.

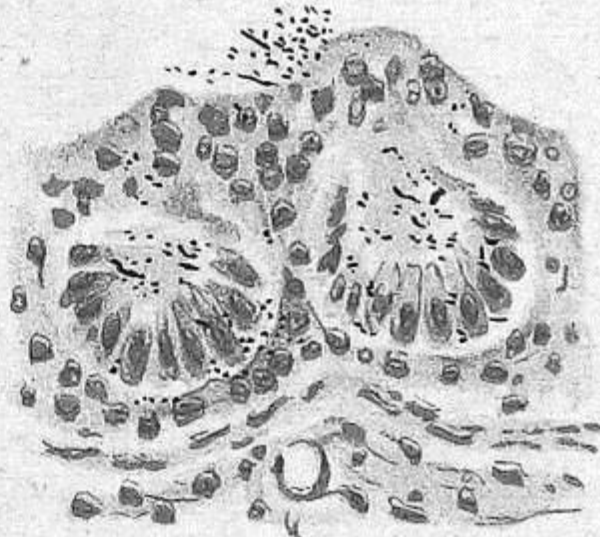


Fig. 8.

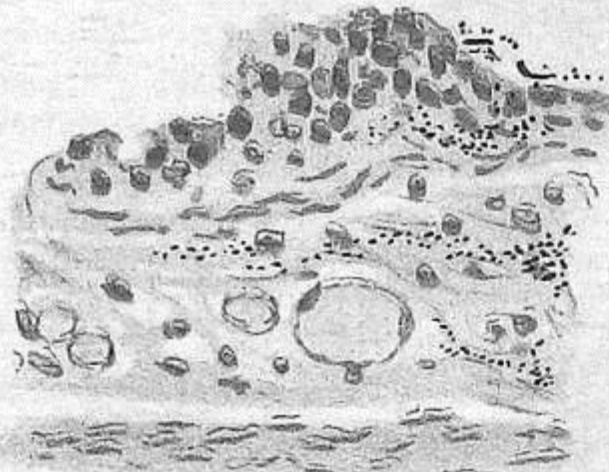


Fig. 9.

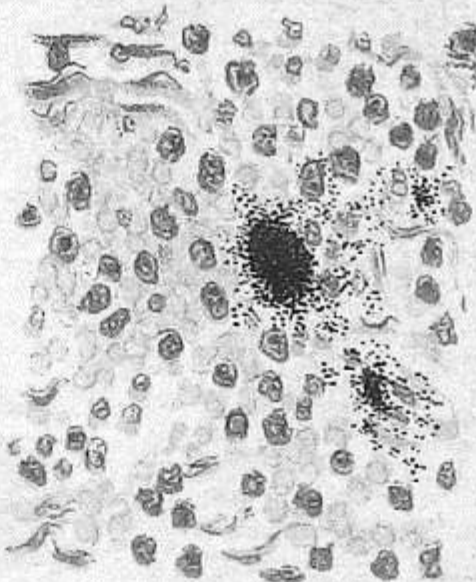


Fig. 10.

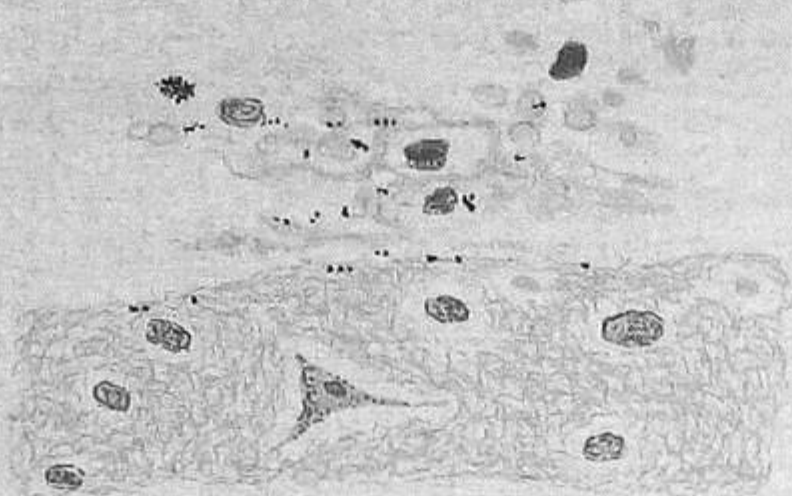


Fig. 11.

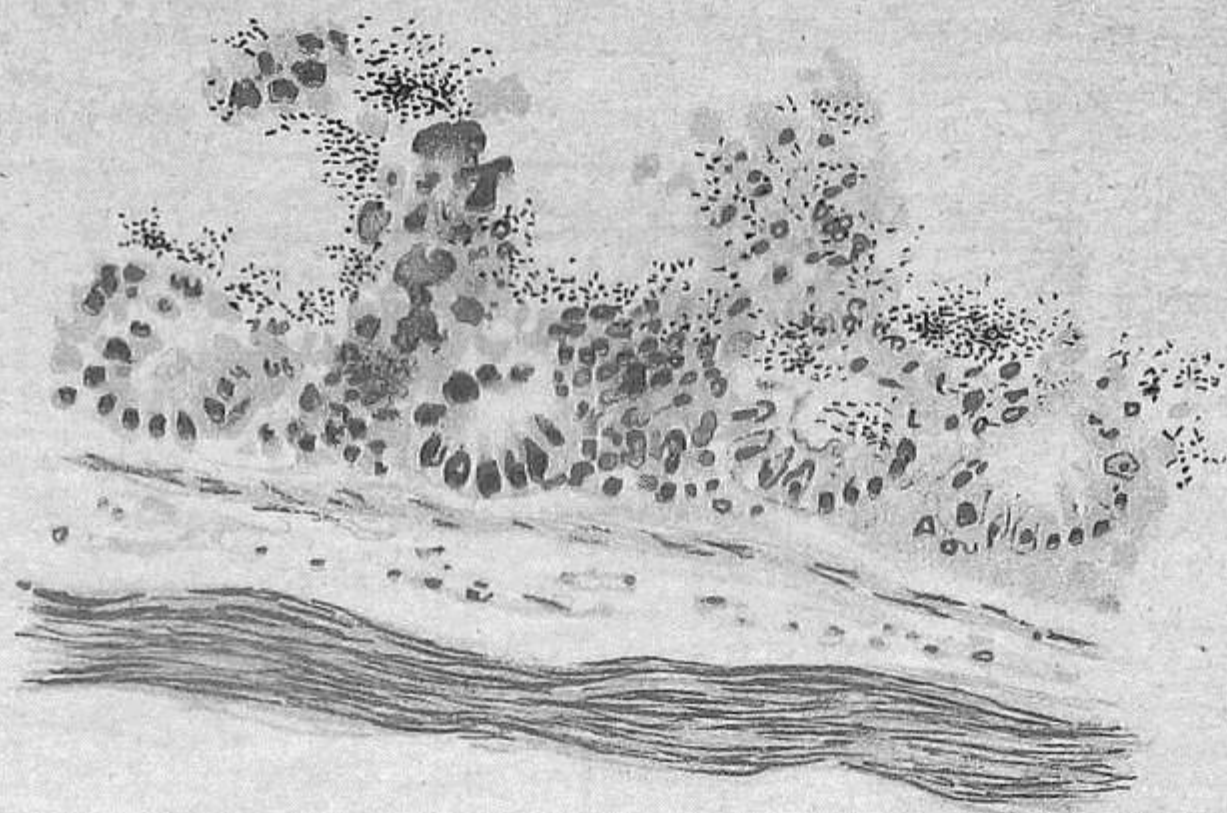


Fig. 12.

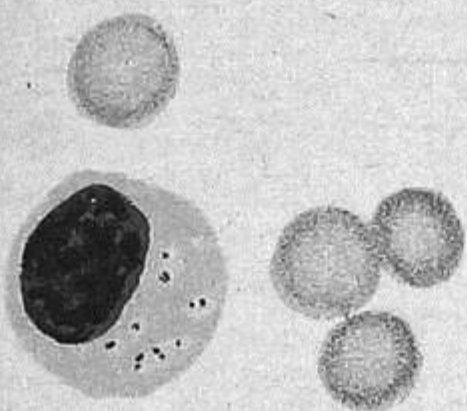


Fig. 13.

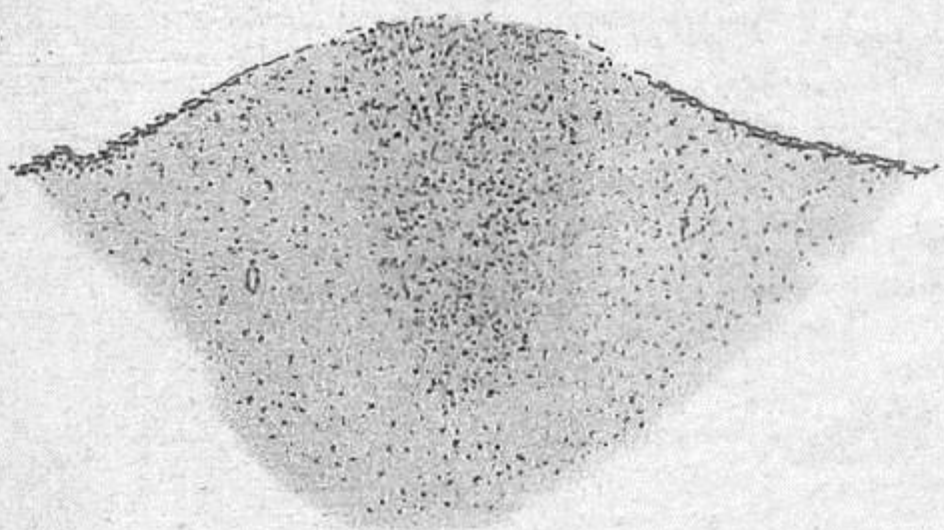


Fig. 14.

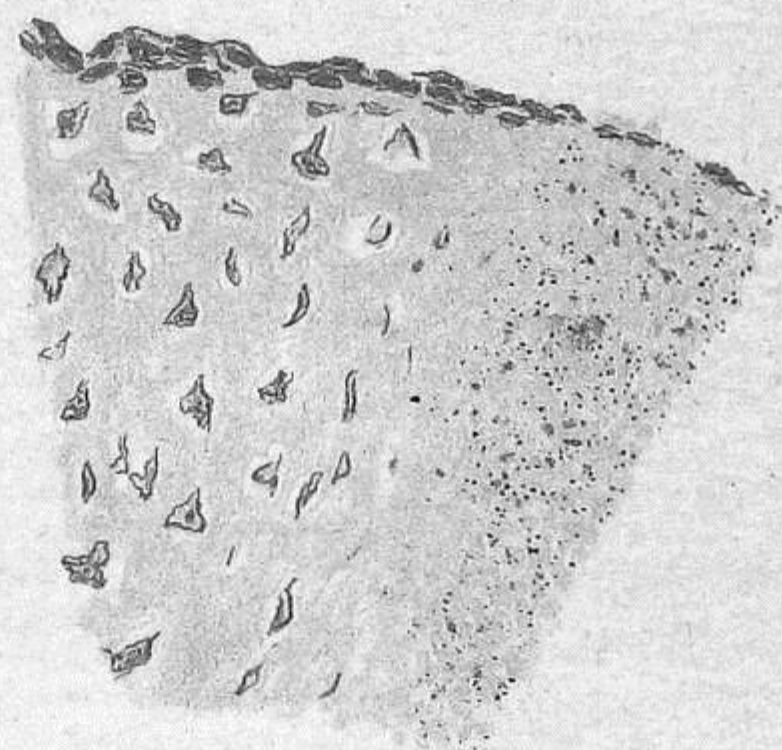


Fig. 15.

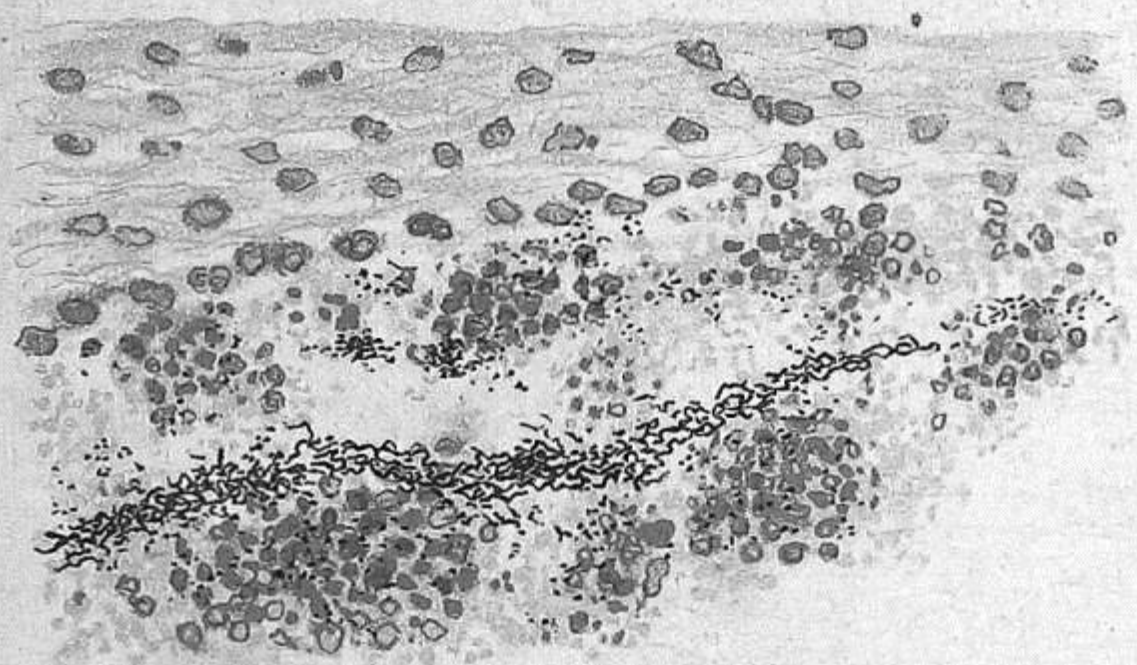
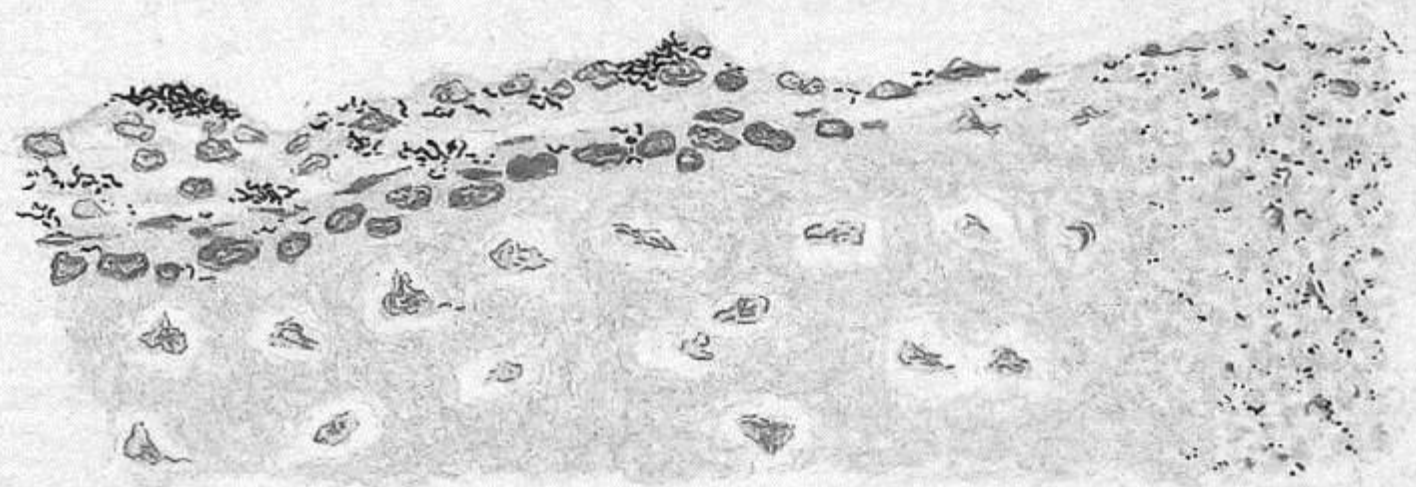


Fig. 16.



Publicazioni della R. Accademia dei Lincei.

Serie 1^a — Atti dell'Accademia pontificia dei Nuovi Lincei, Tomo I-XXIII.
Atti della Reale Accademia dei Lincei. Tomo XXIV-XXVI.

Serie 2^a — Vol. I. (1873-74).

Vol. II. (1874-75).

Vol. III. (1875-76). Parte 1^a TRANSUNTI.

2^a MEMORIE della Classe di scienze fisiche,
matematiche e naturali.

3^a MEMORIE della Classe di scienze morali,
storiche e filologiche.

Vol. IV. V. VI. VII. VIII.

Serie 3^a — TRANSUNTI. Vol. I-VIII. (1876-84).

MEMORIE della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.
Vol. I. (1, 2). — II. (1, 2). — III-XIX.

MEMORIE della Classe di scienze morali, storiche e filologiche.
Vol. I-XIII.

Serie 4^a — RENDICONTI Vol. I-VII. (1884-91).

MEMORIE della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.
Vol. I-VII.

MEMORIE della Classe di scienze morali, storiche e filologiche.
Vol. I-X.

Serie 5^a — RENDICONTI della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.
Vol. I-XV. (1892-1906). Fasc. 6°. 2° sem.

RENDICONTI della Classe di scienze morali, storiche e filologiche.
Vol. I-XIV. (1892-1906). Fasc. 1°-2°.

MEMORIE della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.
Vol. I-VI. Fasc. 1°-7°.

MEMORIE della Classe di scienze morali, storiche e filologiche.
Vol. I-XII. Fasc. 1°.

CONDIZIONI DI ASSOCIAZIONE

AI RENDICONTI DELLA CLASSE DI SCIENZE FISICHE, MATEMATICHE E NATURALI
DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

I Rendiconti della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali della R. Accademia dei Lincei si pubblicano due volte al mese. Essi formano due volumi all'anno, corrispondenti ognuno ad un semestre.

Il prezzo di associazione per ogni volume e per tutta l'Italia di L. 10; per gli altri paesi le spese di posta in più.

Le associazioni si ricevono esclusivamente dai seguenti editori-librai:

ERMANN LOESCHER & C.^o — Roma, Torino e Firenze.

ULRICO HOEPLI. — Milano, Pisa e Napoli.